इकाई 20 जल, मृदा और वायु का सूक्ष्मजैविक परीक्षण

इकाई की रूपरेखा

20.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
20.2 जल का सूक्ष्मजैविक परीक्षण
जलीय चक्र
जल का जीवाणु-विज्ञान
जल-गुणता आमापन
20.3 मृदा का सूक्ष्मजैविक परीक्षण
सूक्ष्मजैविक आबादी
मृदा सूक्ष्मजीवों की अध्ययन विधियाँ
20.4 वायु का सूक्ष्मजैविक परीक्षण
20.5 सारांश
20.6 अंत में कुछ प्रश्न
20.7 उत्तर
20.8 शब्दावली

20.1 प्रस्तावना

इस खंड की पिछली इकाइयों में और खंड 5 में आपने विश्लेषण की यंत्रीय और गैरयंत्रीय विधियों का अध्ययन किया। इन विधियों से ज्ञात होता है कि जल, मृदा और वायु प्रदूषित हैं अथवा नहीं। साथ ही अन्य सूचनाएं भी प्राप्त होती हैं। किन्तु ये विधियां सूक्ष्मजैविक संदूषण, के संसूचन के लिए पर्याप्त सुग्राही अथवा विशिष्ट नहीं होती हैं। दूसरी ओर सूक्ष्मजैविक परीक्षण, जीवाणुओं द्वारा उत्पन्न प्रदूषण को व्यक्त करने के लिए अत्यंत सुग्राही और विशिष्ट होते हैं।

इस इकाई में आप जल, मृदा और वायु के परीक्षण के लिए कुछ सूक्ष्मजैविक तकनीकों का अध्ययन करेंगे।

सूक्ष्मजैविकी क्या है?

पृथ्वी ग्रह की उत्पत्ति लगभग 4.5 अरब वर्ष पहले हुई जबकि वायुमंडल में मुख्यत: नाइट्रोजन, हाइड्रोजन और कार्बन मोनॉक्साइड विद्यमान थे और मुक्त ऑक्सीजन बिल्कुल नहीं थी। आज सूर्य और पृथ्वी के बीच जो ओजोन का परिरक्षक कवच है वह उस युग के वायुमंडल में विद्यमान नहीं था। इसलिए सूर्य की घातक पराबैंगनी किरणें बंजर चट्टानों पर गिरती थीं और उन्हें अनुर्वर बना दिया था। उस समय समुद्र में पर्याप्त मात्रा में अमोनिया और कार्बन डाइऑक्साइड घुले हुए थे तथा सल्फेट और लोहा के प्रचुर भंडार मौजूद थे। इस प्रकार जीवन की उत्पत्ति से पहले पृथ्वी का पर्यावरण अत्यंत प्रतिकूल था। यह माना जाता है कि आदिकाल में जीवन की उत्पत्ति समुद्र में हुई और वहां से भूमि की परिरक्षित विदरिकाओं में स्थानांतरित हो गई जहां सूर्य की पराबैंगनी किरणें नहीं पहुंच सकती थीं। जैव द्रव्य न के बराबर होने के कारण अनुमान है कि आदिकाल में रसायन संश्लेषी सूक्ष्मजीव पृथ्वी के प्रथम उपनिवेशक थे।

सूक्ष्मजैविक विश्व, अर्थात् जंतुक अथवा सूक्ष्म जन्तुओं की दुनिया, को खोजने वाला एंटनी वान लीवेनहोक नामक डच व्यापारी था। सभी ज्ञात एक कोशिकीय सूक्ष्मजीवों की प्रमुख किस्मों- प्रोटोजोआ, यीस्ट, शैवाल, बैक्टीरिया का वर्णन सबसे पहले लीवेनहोक ने किया था। सूक्ष्मजीवों की विविधता के अतिरिक्त लीवेनहोक ने उसकी बहुलता पर भी जोर दिया।

जीवित प्राणियों के ज्ञान में वृद्धि के साथ यह स्पष्ट हो गया कि इन सूक्ष्मजीवों की रोगों, उद्योगों और पारिस्थितिकी में प्रमुख भूमिका होती है और वे लोगों के जीवन के रहन सहन को बदल सकते हैं। *सूक्ष्मजीवों के अध्ययन को सूक्ष्मजैविकी* कहते हैं।

मृदा, जल और वायु में सूक्ष्मजीवों की उपस्थिति का पर्यावरण के भौतिक और रासायनिक गुणधर्मों पर प्रभाव पड़ता है। इसलिए उनके सूक्ष्मजैविक परीक्षण से पर्यावरण की गुणता का आकलन किया जा सकता है जिसमें हम रहते हैं।

उद्देश्य

इस इकाई के अध्ययन के बाद आप,

- जल, मृदा और वायु में सूक्ष्म जीवों के महत्व की व्याख्या कर सकेंगे,
- जल की पेयता का मूल्यांकन करने वाली विधियों का वर्णन कर सकेंगे,
- जल में कोलीफॉर्म की पहचान कर सकेंगे, और
- मृदा सूक्ष्मजीवों की गणना करने के लिए प्रयुक्त विभिन्न तकनीकों का वर्णन कर सकेंगे।

20.2 जल का सूक्ष्मजैविक परीक्षण

जल के सूक्ष्मजैविक परीक्षण का विस्तृत अध्ययन करने से पहले आइए जलीय चक्र और जल के जीवाणु-विज्ञान का अध्ययन करें।

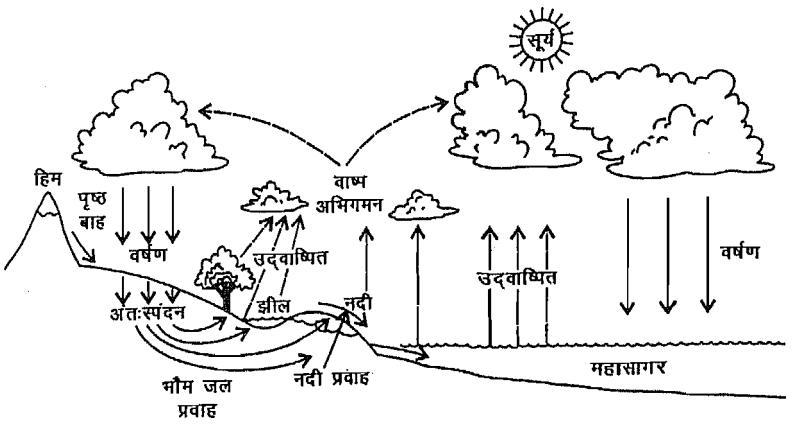
20.2.1 जलीय चक्र (hydrologic cycle)

जल, पृथ्वी में पाया जाने वाला प्रमुख यौगिक है। पृथ्वी के पृष्ठ का लगभग ¾ भाग जल है और 97% जल महासागरों में है। पृथ्वी की जल-सप्लाई जलमंडल, वायुमंडल और स्थल मंडल के बीच लगातार चक्कर लगाती रहती है। जलीय चक्र, पृथ्वी के पृष्ठीय जल से आरंभ होता है जबकि तालाबों, महासागरों और नदियों का जल धूप और हवा के प्रभाव से उद्वाष्पित होकर वायुमंडल में चला जाता है। पादपों, पत्तियों द्वारा वाष्पोत्सर्जन और श्वसन से इस भंडार में योगदान होता है (देखिए चित्र 20.1)। जल, संघनन अथवा वर्षण द्वारा, वर्षा, हिम, ओलों के माध्यम से पृथ्वी में लौट आता है। यद्यपि जल की बूंद देखने में साधारण लगती है किन्तु वह एक सम्मिश्र है जिसमें अनेक प्रकार के रासायनिक पदार्थ और सूक्ष्म जीव विद्यमान रहते हैं।

इस चक्र में जल को, उसके प्राप्ति-स्थान के आधार पर निम्नलिखित तीन प्रमुख वर्गों में विभाजित किया जाता है। इस चक्रीय प्रक्रम के विभिन्न चरणों में अनेक प्रकार के सूक्ष्मजीव विद्यमान रहते हैं।

क) वायुमंडलीय जल

बादलों में विद्यमान नमी, जो हिम, ओलों और वर्षा के रूप में अवक्षेपित होती हैं, वायुमंडलीय जल के अंतर्गत आती है। जल की सूक्ष्मजैविक वनस्पति, वायु से प्राप्त होती है। वायु में मौजूद धूल के कणों के साथ सूक्ष्मजीव संलग्न हो जाते हैं। ये वर्षा द्वारा प्रवाहित हो जाते हैं।



चित्र 20.1: जलीय-चक्र

ख) पृष्ठीय जल

तालाब, सरिता, नदी और महासागर आदि जल राशियां पृष्ठीय जल को निरूपित करती हैं। वायुमंडलीय जल में विद्यमान सूक्ष्मजीवों, मृदा को पृष्ठीय जल प्रवाह और अपशिष्टों को फेंकने से ये जलराशियां संदूषित हो जाती हैं। सूक्ष्मजैविक समुदायों की संख्या और किस्म, जल के स्रोत, सूक्ष्मजैविक पोषकों के रूप में जल के संघटन तथा भौगोलिक, जैविक और जलवायु संबंधी अवस्थाओं पर निर्भर करती हैं।

ग) भौम जल

भौम जल, भूमिगत जल होता है जो मृदा अथवा शैलयुक्त पदार्थों के रंध्रों के वर्षा के जल से संतृप्त होने पर पाया जाता है। भूमि के अंदर इस प्रक्रिया से जल स्रोत को जलभृत कहते हैं। यह पृष्ठीय जल का महत्वपूर्ण स्रोत है। मृदा की पारगम्यता और जल की गहराई से जीवाणुओं और निलंबित द्रव्य के निराकरण में सहायता मिलती है।

स्रोतों ***(Springs)*** **if** भौम जल होता है जो शैल-विदर अथवा खुले रंध्रों के द्वारा पृष्ठ पर पहुंचता है।

कुंओं को खोदने के लिए कूपक को भूमि के अंदर धंसाया जाता है ताकि वह भूमिगत जल की सतह तक पहुंच जाए अच्छे सोतों और कुओं से बहुत अच्छा जल प्राप्त होता है और उनमें सूक्ष्मजीवों की मात्रा नगण्य होती है।

जलीय पर्यावरण में बहुत भिन्नता होने के कारण सूक्ष्मजीवों की विभिन्न जातियों को विशिष्ट आवास का निवासी माना जाता है।

करोड़ों वर्षों में जलीय चक्र के कारण जल की कुल मात्रा में परिवर्तन हुआ है। मनुष्य के कार्यकलापों से उसके वितरण और गुणता में भी परिवर्तन हुआ है। मौसमी उत्स्रवण और बाढ़, तूफान जैसी विपदाओं से जल में पोषक तत्व और जैव द्रव्य मिल जाते हैं। किन्तु सबसे अधिक परिवर्तन वाहित मल, कृषि और उद्योगों के बहि:स्राव होता है जिसमें जैव मलवा अथवा नाइट्रेट और फास्फेट उर्वरक होते हैं। जलीय पारितंत्र में इन पोषकों के इतनी अधिक मात्रा में मिल जाने से (जिसे सुपोषण कहते हैं) समुदायों में तबाही हो जाती है। ज्ञातव्य है कि जल-स्रोतों का उचित प्रबंधन इस शताब्दी की सबसे बड़ी चुनौतियों में है।

बोध प्रश्न 1

(क) प्राकृतिक जल के तीन संवर्ग कौन से हैं? किसी उत्तम गुणता और नगण्य सूक्ष्मजैविक

मात्रा होती है।

.....

.....

.....

(ख) भू-पृष्ठ का कितना भाग जल से घिरा है?

.....

.....

.....

बोध प्रश्न 2

निम्नलिखित शब्दों की व्याख्या कीजिए

क) जलभृत्

.....

.....

ख) सुपोषण

.....

.....

20.2.2 जल का जीवाणु विज्ञान

जल में आश्चर्यजनक सूक्ष्मजैविक गतिविधियां होती हैं। मनुष्यों द्वारा इस्तेमाल होने वाला जल रासायनिक पदार्थों और सूक्ष्मजीवों से मुक्त होना चाहिए अन्यथा स्वास्थ्य के लिए खतरा हो सकता है। ध्यान देने की बात है कि सभी प्रकार के जल में प्रदूषण की संभावना रहती है। जल सप्लाई की स्थिति, रचना और रखरखाव, उसके संग्रह और वितरण-तंत्र में प्रदूषण की संभावना नहीं होनी चाहिए।

रोग उत्पन्न करने वाले सूक्ष्मजीवों को रोग जनक कहते हैं। आजकल प्रमुख जलवाहित रोगजनकों में प्रोटोजोआ के अंतर्गत *गिआर्डिआ* (*Giardia*) और *ऐन्टअमीबा* (*Entamaeba*); बैक्टीरिया के अंतर्गत *कैम्पिलोबैक्टर* (*Campylobacter*), *विब्रो कोलेरी* (*Vibro cholerae*), *सैल्मोनेला* (*Salmonella*), *शिगेला* (*Shigella*), *विब्रियो* (*Vibrio*) और *माइकोबैक्टीरियम* (*Mycobacterium*); और विषाणुओं के अंतर्गत *पोलियो और हैपैटाइटिस* आते हैं (देखिए सारणी 20.1)। इनमें से कुछ (विशेषरूप से पुटीभूत प्रोटोजोआ) प्राकृतिक जल में मानव परपोषी के बिना दीर्घ काल तक जीवित रह सकते हैं जबकि अन्य अल्प समय तक ही जीवित रहते हैं और शीघ्र नष्ट हो जाते हैं। जलवाहित रोगजनक, मल से होते हुए कुओं, जलाशयों के जल में मिल जाते हैं।

सारणी 20.1: जलवाहित रोगजनकों का वर्गीकरण

प्रकार	उदाहरण	रोग
प्रोटोजोआ	*गिआर्डिआ लैम्बिया, एन्टअमीबा हिस्टोलिटिका*	गिआर्डियता (प्रवाहिका रोग), अमीबी अतिसार
बैक्टीरिया	*कैम्पायलोबैक्टर जेजुनी*	प्रवाहिका

जल के सूक्ष्मजैविक परीक्षण का उद्देश्य यह ज्ञात करना है कि रोगजनक जीवों द्वारा जल प्रदूषित हुआ है या नहीं।

	(जीवाणु) वाइब्रो कोलेरा	हैजा
	साल्मोनेला स्पीशीज	टाइफॉइड (आंत्रज्वर)
	शिगेला स्पीशीज	अतिसार
विषाणु	पोलियो विषाणु	पोलियो
	हेपैटाइटिस ए	हैपैटाइटिस (यकृतशोध)

अच्छा यह होगा कि जल के संदूषण के लिए उत्तरदायी रोगजनक की तलाश की जाए किन्तु ऐसा करना व्यवहारिक नहीं है क्योंकि रोगजनकों की संख्या बहुत कम होती है जबकि अरोगजनकों की संख्या बहुत अधिक होती है। साथ ही उनके संसूचन की विधियां भी महंगी है और उनमें समय भी बहुत लगता है। इसलिए हम प्राय: मानव/जन्तु प्रदूषण अर्थात् आंत्र जीवों के सूचकों की तलाश करते हैं। प्रदूषण के सूचकों के रूप में आमतौर पर प्रयुक्त सूक्ष्मजीव हैं– *एशरिकिआ कोली* (*Escherichia Coli*) (*ई० कोली*) और कोलीफॉर्म वर्ग के सभी जीवाणु। ये जीव प्राकृतिक जल में जीवित रहते हैं किन्तु उनकी संख्या में वृद्धि नहीं होती है। इसलिए उनकी संख्या से संकेत मिलता है कि जल में मल-संदूषण कितना है। पर्यावरण संरक्षण एजेंसियों के जल स्वच्छता मानक, मुख्यत: सूचक सूक्ष्मजीवों के स्तर पर निर्भर करते हैं। यदि,

1. प्रदूषण के स्वभाव में संदेह हो,
2. जल का परीक्षण विरल अंतरालों पर करना हो, और
3. जल-सप्लाई के नये स्रोत की जांच करनी हो, तो स्ट्रेप्टोकोकस वर्ग के मल-सूक्ष्मजीवों का अन्वेषण भी किया जाता है।

ई० कोली, कोलीफॉर्म बैक्टीरिया की आबादी में से एक है तथा अन्य कोलीफॉर्म वर्ग की तुलना में मल-स्रोतों का उपयुक्त प्रतिनिधि है।

कोलीफॉर्म जीवाणु की भांति, मानव अपशिष्टों द्वारा आंत्र-विषाणु भी जल में चले जाते हैं। जीवाणुओं के पृथक्करण के लिए प्रयुक्त प्रक्रियाओं की तुलना में विषाणुओं की उपस्थिति ज्ञात करने के उद्देश्य से जल के नमूनों के विश्लेषण के लिए अधिक विस्तृत प्रक्रियाओं की आवश्यकता होती है। जल में विषाणुओं के संसूचन के लिए अभी तक कोई मानक विधि स्वीकार नहीं की गई है। आइए, अब सूचक सूक्ष्मजीवों के बारे में अधिक जानकारी प्राप्त करें।

सूचक सूक्ष्मजीव (Indicator Microorganisms)

सूचक सूक्ष्मजीव 'सचेतक' तंत्र का काम करते हैं। यह एक प्रकार के सूक्ष्मजीव की ओर निर्देश करता है जिसकी जल में उपस्थिति इस बात का प्रमाण है कि जल मनुष्यों अथवा अन्य नियत तापी प्राणियों के मल-पदार्थ से प्रदूषित है। इस प्रकार के प्रदूषण का अर्थ यह है कि इन जन्तुओं के आंत्र क्षेत्र में पाया जाने वाले रोगजनक सूक्ष्मजीव जल में भी उपस्थित हो सकते हैं। सूचक जीव के कुछ महत्वपूर्ण अभिलक्षण इस प्रकार हैं :

1. यह प्रदूषित जल में पाया जाता है किन्तु पेय (अप्रदूषित) जल में नहीं पाया जाता।
2. जब जल में रोगजनक होते हैं तो यह पाया जाता है।
3. यह रोगजनकों की अपेक्षा लंबे समय तक भली भांति जीवित रह सकता है।
4. सूचक जीव की मात्रा का संबंध प्रदूषण की मात्रा से होता है।
5. इसके एक समान और स्थायी गुणधर्म होते हैं।
6. यह रोगजनकों की अपेक्षा अधिक संख्या में विद्यमान रहता है।
7. यह मनुष्यों और अन्य जन्तुओं के लिए हानिरहित होता है।
8. इसकी मानक प्रयोगशाला तकनीकों द्वारा आसानी से पहचान की जा सकती है।

जल सप्लाई के संदूषण के सूचक के रूप में सामान्यत: सूक्ष्मजीवों के दो वर्गों का उपयोग किया जाता है: कोलीफॉर्म वर्ग और मल स्ट्रेप्टोकी वर्ग। इसमें सभी वायुजीवी और विकल्पी आवायुजीवी ग्रैम नेगेटिव तथा अबीजाणुजन दंडाणु हैं जो 35^0 C पर 48 घंटे के अंदर गैस-उत्पादन के साथ लैक्टोस का किण्वन करते हैं। इस वर्ग में *एशारिकिआ कोली* (*ई० कोली*) और *ऐन्टेरोबैक्टर ऐरोजनीज.* (*Enterobacter aerogenes*) नामक कोलीफार्म आमतौर पर पाए जाते हैं।

ई० कोली प्राय: मानव आंत्रों और अन्य नियततापी प्राणियों में वास करता है और उसे मल प्ररूपी कोलीफॉर्म माना जाता हैं। कोलीफॉर्म वर्ग के अन्य सदस्य, जैसे *एन्टेरोबैक्टर एरोजेनीज,* मृदा, जल, और अनाज में तथा मनुष्यों के और अन्य जन्तुओं के आंत्र क्षेत्र में पर्याप्त वितरित रहते हैं और उन्हें मलहीन कोलीफॉर्म कहते हैं। इन स्पीशीज के अनेक अभिलक्षण बहुत समान होते हैं। इनमें निम्नलिखित जैव रासायनिक परीक्षणों द्वारा भेद किया जा सकता है :

सारणी 20.2: एशरिकिआ कोली और एन्टेरोबैक्टर ऐरोजनीज की आइ०एम०वी०आइ०सी अभिक्रिया परीक्षण

जीव	इंडोल	मेथिल रेड	बोजेस प्रोस्केनर	सिट्रेट
एशरिकिआ कोली	+	+	–	–
एन्टेरोबैक्टर ऐरोजेनीज	–	–	+	+

1. *ई०कोली,* ट्रिप्टोफैन से इंडोल उत्पन्न करता है जबकि *एन्टेरोबैक्टर* नहीं करता।
2. विशेष ग्लूकोस यूष **(broth)** माध्यम में उत्पन्न अम्लता की मात्रा को मेथिल रेड पी०एच० सूचक द्वारा संसूचित किया जाता है। दोनों जीव ग्लूकोस से अम्ल उत्पन्न करते हैं। किन्तु *ई०कोली* कम पी०एच० उत्पन्न करते हैं जो सूचक का रंग लाल कर देता है जबकि *एन्टेरोबैक्टर ऐरोजेनीज* अम्ल की अधिक मात्रा उत्पन्न नहीं करते हैं इसलिए रंग-परिवर्तन नहीं होता है।
3. ग्लूकोस पेप्टोन माध्यम में ऐसीटिल मेथिल कार्बिनॉल (ऐसीटॉइन) उत्पन्न करने की क्षमता : इस रसायंन की पहचान वोजेस प्रोस्केनर **(Vogcs -** Proskauer) परीक्षण द्वारा की जाती है। ई० *कोली* ऐसीटॉइन उत्पन्न नहीं करता है जबकि *एन्टेरोबैक्टर ऐरोजेनीज* उत्पन्न करता है।
4. सोडियम सिट्रेट का उपयोग: एन्टेरोबैक्टर ऐरोजेनीज रसायनत: सुनिश्चित माध्यम में वृद्धि कर सकता है जिसमें सोडियम सिट्रेट एकमात्र कार्बन स्रोत होता है। *ई०कोली* ऐसे माध्यम में वृद्धि नहीं करता है। सुविधा के लिए इन परीक्षणों को सामूहिक रूप से आइ०एम०वी०आइ०सी० अभिक्रियाएं कहते हैं। (आइ० = इंडोल, एम० = मेथिल रेड, वी०आइ०-वोजेस प्रोस्केनर अभिक्रियाएं और सी० = सिट्रेट)

मल (फेकल) स्ट्रेप्टोकोसाई मनुष्यों और जन्तुओं की आंतों में *स्ट्रेप्टोकोसाई फेकैलिस, स्ट्रेप्टोकोसाई फेसियम, स्ट्रेप्टोकोसाई बोविस* और *स्ट्रेप्टोकोसाई इक्वीनस* के रूप में विद्यमान रहते हैं। वे मल जल प्रदूषण के सूचक का काम भी करते हैं। आगामी अनुच्छेद में हम पढ़ेंगे कि प्रदूषण स्रोत की पहचान करने के लिए किस प्रकार कोलीफॉर्मों के साथ मल स्ट्रेप्टोकोसाई का उपयोग किया जाता है।

क्लेबसिला और *सिट्रोबैक्टर* वंश में अतिरिक्त कोलीफार्म स्पीशीज हैं जिनकी पहचान के लिए अधिक विस्तृत जैवरासायनिक, आनुवांशिक और प्रतिरक्षात्मक आंकड़ों की आवश्यकता होती है।

कोलीफॉर्म के अनेक अभिलक्षण *साल्मोनेला (Salmonella)* और *शिगेला (Shigella)* वंश की स्पीशीज के समान होते हैं जो रोग जनक हैं। किन्तु एक स्पष्ट भिन्नता यह है कि कोलीफॉर्म, लैक्टोस का किण्वन करते हैं जिससे अम्ल और गैस उत्पन्न होते हैं। *साल्मोनेला* और *शिगेला,* लैक्टोस का किण्वन नहीं करते हैं। इसलिए प्रयोगशाला में कोलीफॉर्मो के निर्धारण के लिए प्रयुक्त प्रक्रिया में लैक्टोस का किण्वन एक प्रमुख अभिक्रिया है।

एस० बोविस और *एस० एक्वीनस* जीवाणु हैं जो पशुओं, घोड़ों से होने वाले प्रदूषण के लिए सूचक का काम करते हैं।

बोध प्रश्न 3

क) सूचक जीव क्या होता है?

.....

.....

.....

ख) जल की पेयता के लिए कोलीफार्मों का परीक्षण किया जाता है रोगजनकों का नहीं, क्यों?

.....

.....

.....

ग) कोलीफॉर्म क्या होते हैं?

.....

.....

.....

घ) यदि कोलीफॉर्म जल में विद्यमान हों तो ..... भी विद्यमान हो सकते हैं और जल पीने के लिए हानिकर होता है।

ङ) कोलीफॉर्मों की 35° C पर क्यों वृद्धि की जाती है?

.....

.....

.....

20.2.3 जल गुणता आमापन

अधिकांश पेय जल की आपूर्ति नदियों, भूमिगत कुंओं और स्रोतों से होती है। भूमिगत स्रोतों से प्राप्त जल निस्यंदन के द्वारा आंशिक रूप से शुद्ध हो जाता है क्योंकि मृदा-स्तंभों में से गुजरते हुए उसमें से कणिकीय पदार्थ और सूक्ष्मजीव पृथक हो जाते हैं। सुरक्षा को सुनिश्चित करने के लिए पीने के लिए प्रयुक्त जल को उबाला जाता है अथवा प्रतिसूक्ष्मजीवी रसायनों द्वारा उसका उपचार किया जाता है। इन प्रतिसूक्ष्मजीवी रसायनों को रोगाणुनाशी कहते हैं, जैसे क्लोरीन और उसके यौगिक: ब्रोमीन, आयोडीन, ओजोन आदि का भी रोगाणुनाशी के रूप में उपयोग किया जाता है। UV विकिरण भी रोगाणुनाशी का कार्य करते हैं।

जल के नमूनों को एकत्रित कर जीवाण्विक विश्लेषण के लिए प्रस्तुत करते समय निम्नलिखित बातों का ध्यान रखना चाहिए :

1. जल-नमूनों को एकत्रित करने के लिए निर्जर्म (रोगाणुरहित) बोतल/पात्र का उपयोग करना चाहिए।
2. नमूने द्वारा उस सप्लाई को निरूपित करना चाहिए जिसमें से उसे लिया गया है।
3. नमूना लेते समय और उसके बाद संदूषण से बचना चाहिए।

4. नमूना एकत्रित करने के बाद यथाशीघ्र उसका परीक्षण कर लेना चाहिए।
5. यदि परीक्षण में देर हो तो नमूने को 0^{o} C और 10^{o} C के बीच के ताप पर संग्रहित करना चाहिए।

सामान्य जीवाण्विक प्रक्रियाओं में निम्न परीक्षण किए जाते हैं :

क) उपस्थित जीवाणुओं की संख्या निर्धारित करने के लिए प्लेट गणन, और

ख) कोलीफॉर्म जीवाणुओं की उपस्थिति बतलाने वाले परीक्षण।

(क) सूक्ष्मजीवों की कुल गणना (Total Count of Microorganisms)

जल के नमूनों में जीवाणुओं की कुल संख्या के निर्धारण से सप्लाई में उपस्थित जैव द्रव्य की मात्रा और प्रकार का संकेत मिलता है। जल के नमूने में मौजूद सूक्ष्मजीवों की कुल संख्या निर्धारित करने के लिए मानक प्लेट गणन विधि का उपयोग किया जाता है। यह विधि इस धारणा पर आधारित है कि ठोस माध्यम में प्रत्येक कोशिका में बार बार वृद्धि होती है और अंततोगत्वा एक पृथक कॉलोनी बन जाती है। परीक्षण के लिए 1 cm^3 जल का प्लेटिंग किया जाता है जिसमें कल्चर माध्यम के रूप में प्लेट गणन ऐगार अथवा मानक विधि ऐगार का उपयोग किया जाता है। प्लेटों का 35^{o} C पर 48 से 72 घंटों तक ऊष्मायन किया जाता है। उसके बाद कॉलोनी गणित्र (colony counter) द्वारा माध्यम में कॉलोनियों की गणना की जाती है। साधित्र के रूप में आवर्धक लेन्स अथवा उन्नत इलेक्ट्रॉनिक कालोनी गणित्र का उपयोग किया जा सकता है। उत्तम कोटि का जल कम गणन देता है जो 100 आबादी प्रति cm^3 से कम होता है।

प्लेट गणन, जीवों के निराकरण अथवा नष्ट करने के लिए जल-उपचार प्रक्रियाओं की दक्षता को निर्धारित करने में काफी उपयोगी हैं। जल उपचार प्रक्रियाएं इस प्रकार हैं: अवसादन, निस्यंदन और क्लोरीनन। गणन, विशिष्ट उपचार के पहले और बाद में किया जा सकता है। परिणाम से पता लगता है कि सूक्ष्मजैविक संख्या कितनी कम हुई है।

(ख) कोलीफॉर्मों का परीक्षण

कोलीफॉर्म वर्ग की पहचान के दो मानक परीक्षण हैं :

i) बहु-नली किण्वन परीक्षण (multiple-tube fermentation test) (एम०टी०एफ०)

ii) झिल्ली निस्यंद परीक्षण (membrane filter test) (एम०एफ०)

i) बहु-नली किण्वन परीक्षण

इस परीक्षण में कोलीफॉर्म जीवों के लिए जल का परीक्षण करने के लिए सर्वाधिक प्रसंभाव्य संख्या (most probable number) (एम०पी०एन०) प्रक्रिया तथा वरणात्मक और विभेदक माध्यमों का उपयोग किया जाता है। पेय और अन्य जल के विश्लेषण के लिए इस परीक्षण का अनेक देशों में सफलतापूर्वक उपयोग किया गया है। कोलीफॉर्म परिणामों को जीव की सर्वाधिक प्रसंभाव्य संख्या (most probable number) (एम०पी०एन०) के रूप में व्यक्त किया जाता है। इसलिए इस परीक्षण को एम०पी०एन० विधि भी कहते हैं। परीक्षण से कोलीफॉर्म जीवाणुओं की वास्तविक संख्या नहीं बल्कि सर्वाधिक संभावित संख्या प्राप्त होती हैं। यह तीन चरणों में पूरा होता है (i) अनुमानित (presumsptive) परीक्षण (ii) सपुष्टि (conforination) परीक्षण और (iii) पूर्ण परीक्षण (completed test) (चित्र 20.2)

1) अनुमानित परीक्षण (presumptive test)

इसमें किण्वन नलियों के तीन उपसमुच्चय (subsets) लिए जाते हैं। प्रत्येक उपसमुच्चय में 5 किण्वन नलियां होती हैं और प्रत्येक नली में उपयुक्त लैक्टोस संवर्ध माध्यम (लैक्टोस ब्रॉथ) और एक उल्टी डुरहैम नली (गैस एकत्रित करने के लिए) होती है। तीन उपसमुच्चयों **4** जल नमूने की भिन्न मात्राएं उदाहरणार्थ क्रमश: 10 cm^3, 1 cm^3 और

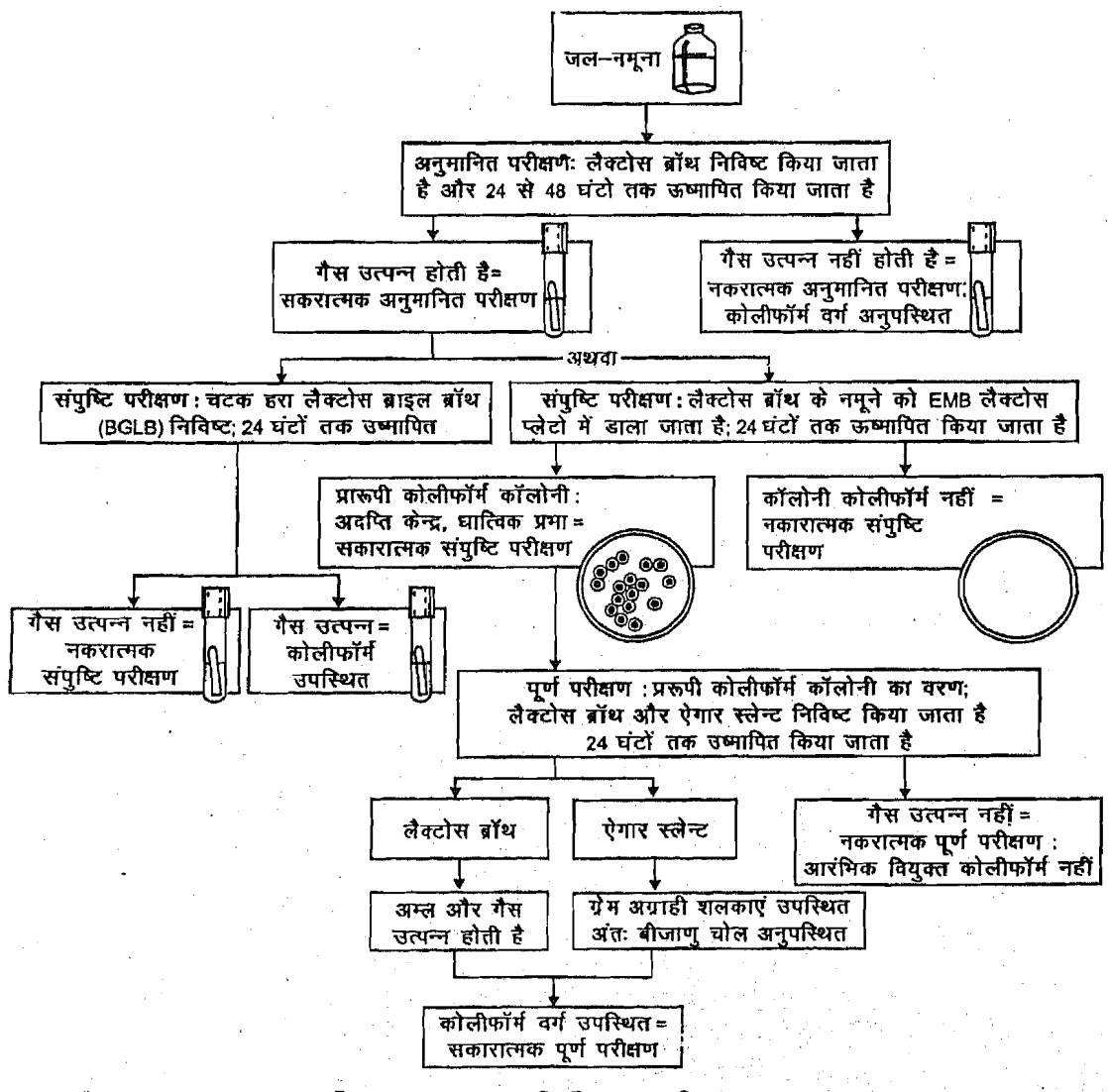
विश्लेषण की यंत्रीय विधियां

कोलीफॉर्म जीवाणुओं की सान्द्रता प्रति 100cm^3 सर्वाधिक प्रसंभाव्य सख्या (एम०एन०पी०/100 cm^3) के रूप में व्यक्त की जाती है। एम०पी०एन० समान आयतन के अनेक हिस्सों का गुणोत्तर श्रेणी में परीक्षण करते समय प्राप्त धनात्मक और ऋणात्मक परिणामों की संख्या के विश्लेषण के चरम मानों के प्वासों बंटन (possion distribution) के अनुप्रयोग पर आधारित है। ध्यान देने की बात है कि एम०एन०पी० उपस्थित जीव की पूर्ण सान्द्रता नहीं है बल्कि प्रत्यक्ष प्वासों बंटन का केवल सांख्यिकीय आकलन है।

0.1 cm^3 निविष्ट की जाती हैं (देखिए चित्र 20.3) 35^0 C पर ऊष्मायन (incubation) के 24± घंटे बाद नलियों का गैस उत्पादन के लिए मूल्यांकन किया जाता है। जो नलियां सकारात्मक गैस उत्पादन प्रदर्शित करती हैं वे कोलीफॉर्मों का अनुमानित प्रमाण प्रस्तुत करती हैं और नकारात्मक गैस उत्पादन का अर्थ है कि कोलीफॉर्म नहीं है। प्रत्येक उपसमुच्चय से ऐसी सकारात्मक और नकारात्मक नलियों की संख्या गिन ली जाती है और इन मानों को सांख्यिकीय सारणियों में प्रयुक्त किया जाता है जिससे सर्वाधिक प्रसंभाव्य संख्या (एम०पी०एन०) प्राप्त होती है। ऐसी ही एक एम०पी०एन० सारणी परिशिष्ट I में दी गई है। एम०पी०एन० सारणी से कोलीफॉर्मों की सर्वाधिक प्रसंभाव्य अथवा संभावित संख्या का आकलन किया जा सकता है।

- **संपुष्टि परीक्षण**

दूसरा चरण संपुष्टि परीक्षण का है। इसमें एक स्वच्छ किण्वन नली को, चटक हरा जिसमें बाइल और लैक्टोस (brilliant green, bile, and lactose) (बी०जी०बी०एल०) ब्रॉथ हो, अनुमानित परीक्षण के सकारात्मक परीक्षण के नमूने के साथ निविष्ट किया जाता है। बी०जी०बी०एल० ब्रॉथ में अवयव, कोलीफॉर्म के लिए वरणात्मक होते हैं। 24 घंटों तक



चित्र 20.2: बहुनली किण्वन परीक्षण द्वारा कोलीफॉर्म के लिए पेय जल का विश्लेषण

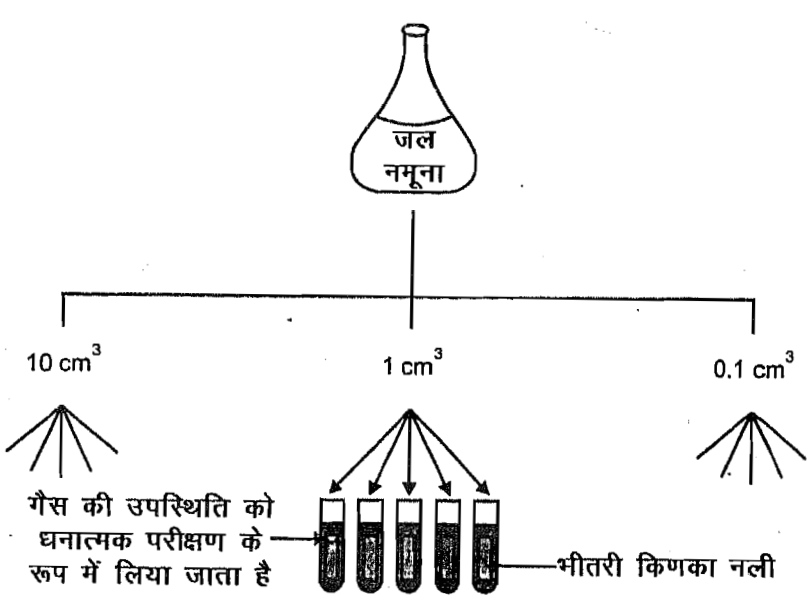
ऊष्मायन के बाद इस नली का गैस उत्पादन के लिए प्रेक्षण किया जाता है। इससे कोलीफ्लॉर्मो की उपस्थिति की पुष्टि होती है।

वैकल्पिक रूप से नमूनों के कोलीफॉर्म जीवाणुओं के कल्चर विकसित करके भी कोलीफॉर्मो की उपस्थिति की संपुष्टि जा सकती है। ये नमूने उस नली से लिए जाते हैं जो वरणात्मक माध्यम में सकारात्मक अनुमानित परीक्षण प्रदर्शित करते हैं। वरणात्मक माध्यम इओसिन मेथिलीन ब्लू ऐगार (इ०एम०बी०) अन्य जीवों की वृद्धि को रोक देते हैं। 35° C पर 24 घंटों तक ऊष्मायन करने के बाद उसका कोलीफॉर्म की प्ररूपी कालोनी के लिए परीक्षण किया जाता है। यदि प्ररूपी कालोनी दिखाई दे तो 'पूर्ण परीक्षण' किया जाता है।

- **पूर्ण परीक्षण**

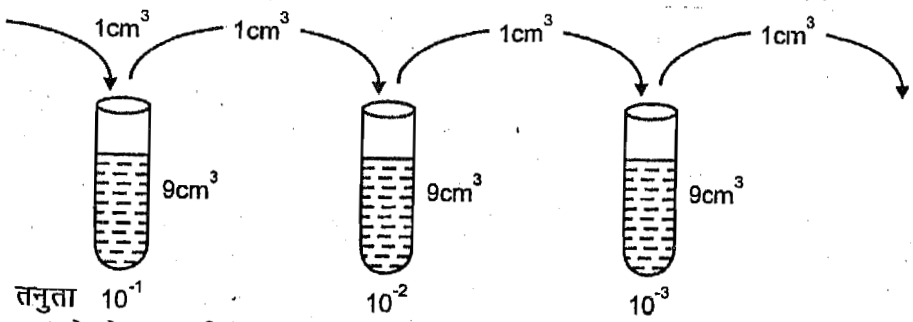
इ०एम०बी० प्लेट से अनेक कालोनियों का लैक्टोस ब्रॉथ किण्वन नली में पोषक ऐगार स्लैन्ट पर उपसंवर्धन किया जाता है। दोनों का 35° C पर 24 घंटों के लिए उष्मायन किया जाता है। ब्रॉथ में गैस और स्लैन्ट पर ग्रैम अग्राही,अबीजाणु शलाका का बनना कोलीफार्मो को प्रमाणित करता है।

दैनिक जल विश्लेषण के लिए केवल अनुमानित परीक्षण किया जाता है। अनुमानित परीक्षण के प्रमुख चरणों को संक्षेप में चित्र 20.3 में दिखाया गया है।



चित्र 20.3: अनुमानित परीक्षण का निदर्श-चित्र

अपेय प्रदूषित जल के लिए अल्प आयतन के अर्थात् 1 सेमी^{3}, 0.1 सेमी$^{-3}$ और 0.01 सेमी^{3} के नमूने लिए जाते हैं। नमूने की अल्प मात्राओं को स्थानांतरित करना कठिन होता है, इसलिए पहले एक श्रेणी में तनुकरण किया जाता है जैसा कि नीचे दिखाया गया है।



आरंभिक नमूने के 1 cm^3 में कोशिकाओं की जितनी संख्या होगी उससे प्रथम न ा के 1 cm^3 नमूने में उनकी संख्या 1/10 ही होगी।

नमूने का निवेशन और तनुकरण निर्जर्म परिवेश में किया जाता है अर्थात् या तो पराबैंगनी प्रकाश युक्त निवेश कक्ष में अथवा ज्वाला के परिवेश में किया जाता है।

झिल्ली निस्यंदक तकनीक और उपभोज्यों की ऊंची लागत के कारण, भारत में बहुनली किण्वन विधि का उपयोग अधिक किया जाता है।

2) झिल्ली निस्यंदन परीक्षण (membrane filter test)

जल के तीव्र परीक्षण के लिए आजकल इस विधि का विस्तृत उपयोग किया जाता है। यह विधि निम्नलिखित चरणों में होती हैं :

1. जीवाणुरहित निस्यंदन यूनिट में एक झिल्ली निस्यंदक रखा जाता है। झिल्ली निस्यंदक में बहुत छोटे रंध्र (0.45 माइक्रोमीटर व्यास के) होते हैं। जीवाणु, निस्यंदक में ही रह जाते हैं क्योंकि वे रंध्र से बड़े होते हैं जबकि जल-नमूना उसमें से निकल जाता है देखिए चित्र 20.4।
2. निर्वात पंप की मदद से नमूने का ज्ञात आयतन (प्राय 100 cm^3) को इस यूनिट में से निकाला जाता है। जीवाणु, झिल्ली-निस्यंदक के पृष्ठ पर रह जाते हैं।
3. झिल्ली निस्यंदक को पृथक कर ऐसे अवशोषक पैड पर रखा जाता है जिसे उपयुक्त माध्यम द्वारा संसिक्त किया गया हो। अथवा वैकल्पिक रूप से निस्यंदक को अपूतिक रूप से पेट्रीडिश में ऐगार माध्यम (इ०एम०बी० अथवा ऐन्डो ऐगार) के पृष्ठ पर रखा जा सकता है।
4. 35° C पर 24 घंटों तक ऊष्मायित करने के बाद झिल्ली निस्यंदक पर कालोनियों के परिवर्धन के लिए प्रेक्षण करें। इ०एन०बी० पर प्ररूपी कोलीफॉर्म कालोनी गहरे बैंगनी रंग की होती हैं और उनकी हरी धात्विक प्रभा होती है। ऐन्डो (endo) पर कालोनी गहरे लाल रंग की होती हैं और पृष्ठों पर गुलाबी अथवा लाल धात्विक प्रभा होती है। कोलीफॉर्म कालोनियों की गणना कर ली जाती है और परिणाम प्रति 100 cm^3 कुल कोलीफॉर्म के रूप में व्यक्त किए जाते हैं। इन कालोनियों का सत्यापन पूर्व प्रक्रिया (i) से किया जाता है।

पिछली तकनीक की तुलना में इस तकनीक के निम्नलिखित लाभ हैं।

i) जल नमूने की किसी भी मात्रा का परीक्षण किया जा सकता है।

ii) जीवों के चयन अथवा विभेदन के लिए एक ही झिल्ली निस्यंदक का उपयोग अथवा एक माध्यम से दूसरे माध्यम में स्थानांतरण किया जा सकता है।

iii) मानक एम०पी०एन० विधि की अपेक्षा इससे शीघ्र परिणाम प्राप्त होते हैं।

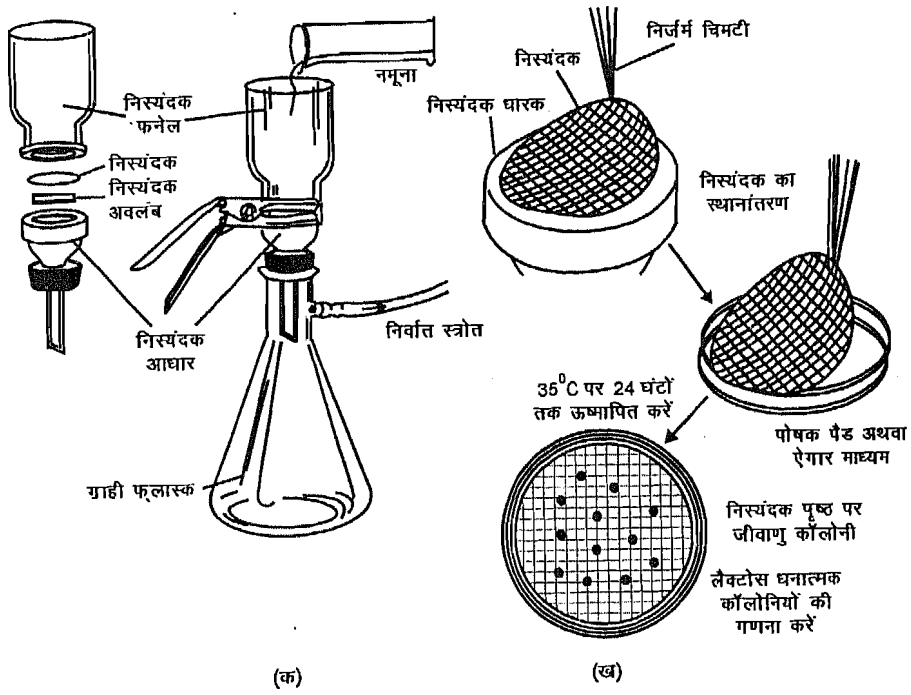
iv) कोलीफॉर्म आदि जीवाणुओं का उपयुक्त माध्यम में गुणात्मक आकलन किया जा सकता है।

इस तकनीक की कुछ निम्नलिखित कमियां हैं :

i) झिल्ली निस्यंदन, उच्च आविलता और न्यून गणन वाले जल के लिए उपयुक्त नहीं होता है क्योंकि पर्याप्त मात्रा में जल के गुजरने से पहले निस्यंदक अवरुद्ध हो जाएगा।

ii) माध्यम में अभिवृद्धि कर सकने वाले अनेक गैर-कोलीफार्म जीव, कोलीफार्म समूह के साथ बाधा उत्पन्न कर सकते हैं।

उपर्युक्त परीक्षणों से प्राप्त कोलीफॉर्म जीवाणुओं की कुल गणना, जल स्रोतों की पेयता को निर्धारित करता है। प्रति 100 cm^3 कुल कोलीफॉर्म गणना के आधार पर जल को चार वर्गों में विभाजित किया जा सकता है (देखिए सारणी 20.3)।



चित्र 20.4: झिल्ली-निस्यंदक व्यवस्था क) निस्यंदन यूनिट ख) नमूने को निस्यंदन करने के बाद झिल्ली को पेट्रीडिश में रखा जाता है, जिसमें संवर्ध माध्यम हो, और फिर ऊष्मायित किया जाता है।

सारणी 20.3: जीवाण्विक परीक्षणों के अनुसार पेय जल का वर्गीकरण

		अनुमानित कोलीफॉर्म गणना एम०पी०एन० प्रति 100 cm^3	इ०कोली (एफ०सी०) एम०पी०एन० प्रति 100 cm^3
I	उत्तम	0	0
II	संतोषजनक	1 – 3	0
III	संदेहजनक	4 – 10	0
IV	असंतोषजनक	> 10	0 – 10

मल प्रदूषण, यदि हो तो, उसे मल (fecal) कोलीफॉर्म (एफ०सी०) गणन द्वारा निर्धारित की जाती है जो मानव प्रदूषण का सूचक होता है। सूचक जीवाणुओं का एक अन्य वर्ग होता है जिसे मल स्ट्रेप्टोकोसाई (fecal streptococci **or FS)** (एफ०एस०) कहते हैं। मल स्ट्रेप्टोकोकल गणना, अन्य जन्तु स्रोतों से उत्पन्न प्रदूषण की ओर संकेत करता है।

किसी नमूने के मल स्ट्रेप्टोकोकस प्रति सेमी^{3} की मल कोलीफॉर्मों के साथ अनुपात (एफ०सी०/एफ०एस०) की व्याख्या इस प्रकार की जा सकती है :

2 और 4 के बीच – मानव और जन्तु प्रदूषण
> 4 – मानव प्रदूषण
< 0.7 – कुक्कुट और पशुधन प्रदूषण

सूचक जीवाणु वर्गों के सह्य स्तरों (tolerable levels) के मानक

जल के अभीष्ट उपयोग के अनुसार मानक भिन्न होते हैं (देखिए सारणी 20.4)। नगर पालिकाओं द्वारा सप्लाई किए जाने वाले जल पर जिसे अधिकांश लोग इस्तेमाल करते हैं। सबसे सख्त मानक प्रयुक्त किए जाते हैं।

ग्रामीण क्षेत्रों में जहां सेप्टिक टैंकों का उपयोग किया जाता है वहां वर्षा वाह जल अध्ययन और प्रदूषण-अध्ययन में प्रदूषण के स्रोत को निर्धारित करने में एफ०सी०/एफ०एस० अनुपात बहुत उपयोगी हो सकता है।

मल कोलीफॉर्म (Fecal coliform) (FC) जीवाणु वर्ग का निर्धारण 24 ± 2 घंटों तक उन्नयित ऊष्मायन ताप (44.5°C) पर गैस (अथवा कालोनियों) को उत्पन्न करने की क्षमता पर निर्भर करता है

किसी संक्रमण को प्रमाणित करने के लिए सैकड़ों से हजारों जीवाणुओं की न्यूनतम संक्रामक मात्रा की आवश्यकता होती है। 1/100 cm^3 कोलीफॉर्म मानक को पूरा करने वाले पेय जल आपूर्ति, उपयोग के सुरक्षित होती है।

सारणी 20.4: सूचक जीवाणु वर्गों के लिए कुछ भारतीय और अंतर्राष्ट्रीय जल गुणता मानक

उपयोग	कुल कोलीफॉर्म एम०पी०एन० प्रति **100 cm^3**	मल कोलीफॉर्म एम०पी०एन० प्रति **100 cm^3**	एजेंसी/देश
सार्वजनिक जल आपूर्ति	0	0	वि०स्वा०सं (WHO)
पेय जल स्रोत, परंपरागत उपचार के बिना, किन्तु विसंक्रमण के बाद	< 50	कोई मान नहीं	भारत
पेय जल स्रोत, परंपरागत उपचार और विसंक्रमण के बिना	< 5000	कोई मान नहीं	भारत
स्नान, मनोरंजन के लिए प्रयुक्त जल	5000 निर्देश 10,000 अनिवार्य	100 निर्देश 2000 अनिवार्य	यूरोप
बाहरी स्नान (संगठित)	< 500	कोई मान नहीं	भारत
कवच प्राणीयन	70	कोई मान नहीं	संयुक्त राज्य
(shell fishing)	कोई मान नहीं	14	वेनेजुला मेक्सिको

बोध प्रश्न 4

क) किस जीव के लिए अनुमानित परीक्षण का उपयोग किया जाता है?

.....

.....

.....

ख) एम०पी०एन० का क्या अर्थ है?

.....

.....

.....

ग) *ई०कोली* और एन्टेरोबैक्टर इ०एम०बी० ऐगार पर कौन सा कॉलोनी रंग बनाते हैं?

.....

.....

.....

घ) संपुष्टि परीक्षण में सकारात्मक अनुमानित परीक्षण से ..... ब्रॉथ अथवा ..... ऐगार में स्थानांतरण किया जाता है।

ङ) एक जल विश्लेषण में निम्नलिखित परिणाम प्राप्त हुए। परिशिष्ट I में दी गई एम०पी०एन० सारणी से कोलीफॉर्म सान्द्रता ज्ञात कीजिए।

cm^3 में जल-नमूना	सकारात्मक नलियों की संख्या	नकारात्मक नलियों की संख्या
10	4	1
1	4	1
0.1	1	4

20.3 मृदा का सूक्ष्मजैविक परीक्षण

सामान्य व्यक्ति मृदा को अक्रिय पदार्थ मानता है। किन्तु इस धारणा के विपरीत यह विशाल और विविध सूक्ष्मजैविक आबादी सहित अनेक प्रकार के जीवों के भण्डार का काम करती हैं। मृदा में रहने वाले इन जीवों के लाभदायक कार्य उनके हानिकारक प्रभावों से बहुत अधिक हैं।

मृदा में रहने वाले सूक्ष्मजीवों की अनुपस्थिति में पृथ्वी पर जीवन बनाए रखना असंभव है। मृदा में मृत पादप, जन्तु ऊतक और जन्तु अपशिष्ट आदि जैव द्रव्य के निम्नीकरण के लिए सूक्ष्मजीवी आवश्यक हैं। सूक्ष्मजैविक एन्ज़ाइमों द्वारा इन स्थूल अणुओं के जल-अपघटन से मृदा को मूल तत्व पोषकों की आपूर्ति और पुन: प्राप्ति होती रहती है। एन्ज़ाइमी रूपांतरण द्वारा पौधे इन पोषकों का कार्बनिक यौगिकों में स्वांगीकरण कर लेते हैं जो उनकी वृद्धि और उत्पादन के लिए आवश्यक होते हैं। बदले में ये पौधे जीवों के लिए पोषण द्रव्यों के स्रोत का काम करते हैं। इस प्रकार अनेक मृदा जीव कुछ तात्विक चक्रों में प्रमुख भूमिका निभाते हैं। उनमें सबसे अधिक महत्वपूर्ण हैं : नाइट्रोजन चक्र, कार्बन चक्र और गंधक चक्र। कुछ सूक्ष्मजीव, फास्फोरस, लोहा, पोटैशियम, जस्ता, मैंगनीज और सिलीनियम आदि तत्वों के एन्जाइमी रूपांतरण में भी कार्य करते हैं। इन जैवरासायनिक परिवर्तनों से ये खनिज पौधों को विलेय रूप में उपलब्ध रहते हैं।

20.3.1 सूक्ष्मजैविक आबादी

यह ध्यान रखना आवश्यक है कि मृदा पर्यावरण एक स्थान से दूसरे स्थान में और एक अवधि से दूसरी अवधि में भिन्न-भिन्न होते हैं। इसलिए किसी विशेष नमूने की विशिष्ट सूक्ष्मजैविक वनस्पति के निर्धारण में नमी, पी०एच०, ताप, गैसीय ऑक्सीजन मात्रा तथा मृदा के जैविक और अजैविक संघटन निर्णायक होते हैं। मृदा में जीवाणु, कवक, ऐक्टिनोमाइसिटीज, प्रोटोजुआ, शैवाल और विषाणु सहित असंख्य सूक्ष्मजीव होते हैं। उनकी संख्या अरबों में हो सकती है (सारणी 20.5)। इस विविधता के बावजूद मृदा में जीवाणुओं की आबादी, सूक्ष्मजीवों के अन्य सब वर्गों की आबादी से, संख्या और किस्म दोनों में, अधिक होती है।

सारणी 20.5: उपजाऊ मृदा में सूक्ष्मजैविक आबादी

प्रकार		संख्या प्रतिग्राम
जीवाण	प्रत्यक्ष गणना	2,500,000,000
	तनुकरण प्लेट	15,000,000
ऐक्टिनोमाइसिटीज		700,000
कवक		400,000
शैवाल		50,000
प्रोटोजोआ		30,000

जीवन के स्थूल रूप जैसे केंचुए, सूत्रकृमि, बरूथी और कृमि तथा पादपों का मूल-तंत्र भी चारों ओर पाए जाते हैं। इस प्रकार मृदा अत्यंत जटिल जीवित पर्यावरण है।

मृदा में अभिलाक्षणिक संस्तर होते हैं। ये विभिन्न मोटाई और संरचना की समांतर परतें होती हैं। प्रत्येक संस्तर अपने ऊपर और नीचे के संस्तर से कार्बनिक और पी०एच० की दृष्टि से भिन्न होता है। ये गुणधर्म, आर्द्रता, गैसीय मात्रा तथा संस्तर की जैव-मात्रा में को प्रभावित करते हैं। उदाहरण के लिए जिस संस्तर में जैव द्रव्य पर्याप्त मात्रा में होता है उसमें जैव गतिविधियां बहुत अधिक होती हैं तथा वह आधार शैल (bedrock) से बने संस्तर से बिल्कुल भिन्न होता है आधार शैल से बने संस्तर में जैव द्रव्य बहुत कम होता है और उसमें जैव गतिविधियां भी कम होती हैं।

बोध प्रश्न 5

क) मृदाओं का लक्षण-वर्णन कैसे किया जाता है?

.....

.....

.....

ख) मृदा में सूक्ष्मजीवों की संख्या और प्रकार को प्रभावित करने वाले कारक कौन से हैं?

.....

.....

.....

ग) मृदा में निम्नलिखित की संख्याओं की तुलना कीजिए विषाणु, प्रोटोजोआ, शैवाल, कवक, जीवाणु।

.....

.....

.....

घ) तीन मुख्य तात्विक चक्र कौन से हैं?

.....

.....

.....

ङ) मृदा में जैव द्रव्य की भूमिका बताइए।

.....

.....

.....

20.3.2 मृदा सूक्ष्मजीवों की अध्ययन विधियां

सूक्ष्मजैव अध्ययन के लिए प्रयुक्त मृदा-नमूने में प्रकृति में पाए जाने वाले असंख्य सूक्ष्म-जीवों का मिश्रण होता है। मृदा के विभिन्न रूपों, संरचनाओं और उपापचयी गतिविधियों के आकलन के लिए तथा मृदा में सूक्ष्मजीवों की व्यवस्था के निर्धारण के लिए प्रयुक्त विधियों में रूप का निर्धारण, मृदा में सूक्ष्म जीवों की व्यवस्था, उपवर्ग और जाति (स्पीशीज) का पृथक्करण और लक्षण वर्णन तथा उपापचयी प्रक्रमों का संसूचन एवं माप शामिल हैं।

मृदा के नमूने प्राप्त करना

1. मृदा के नमूने प्राय: 6 इंचों की गहराई से एकत्रित कर स्वच्छ पात्रों में स्थानांतरित कर दिए जाते हैं।
2. प्रत्येक प्रतिकृति के लिए तीन से पांच नमूने लिए जाते हैं और उन्हें भली भांति मिला लिया जाता है।
3. किसी प्रतिकृति के प्रतिनिधि नमूने के रूप में कम से कम 10 – 25 ग्राम मृदा ली जाती है।

मृदाओं में भिन्नता होने के कारण उनके विश्लेषण के लिए प्रयुक्त सूक्ष्मजैव विधियां भी भिन्न होती हैं। मृदा सूक्ष्मजीवों के अध्ययन के लिए निम्नलिखित विधियों का प्रयोग किया जाता है:

1. प्रत्यक्ष सूक्ष्मदर्शिका (direct microscopy)

मृदा में सूक्ष्मजीवों के रूप और विन्यास के निर्धारण के लिए प्रत्यक्ष परीक्षण उपयोगी होता है। मैग्नीशियम सल्फोनिक अम्ल, एक्रीडीन आरेन्ज और फ्लूओरेसीन आइसोथायोसायनेट (एफ०आइ०टी०सी०) जैसे प्रतिदीप्तिशील अभिरंजकों द्वारा सामान्य प्रकाश सूक्ष्मजैविकी (light microscopy) की मदद से मृदा-कणों पर सूक्ष्मजीवों का प्रेक्षण संभव होता है। संचरण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शिकी (टी०इ०एम०) और क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शिकी (एस०इ०एम०) से अच्छा विभेदन प्राप्त होता है तथा वे सूक्ष्मजीवों के आकार और संरचना दोनों को प्रदर्शित करते हैं। एस०इ०एम० से त्रिविम दृश्य प्राप्त होता है।

प्रत्यक्ष सूक्ष्मदर्शी परीक्षण के लिए मृदा के तनु नमूने को स्वच्द कांच स्लाइड के ऊपर पतली फिल्म के रूप में फैलाया जाता है। फिल्म के स्थिरीकरण और अभिरंजन के बाद सूक्ष्मजीवों की सूक्ष्मदर्शी द्वारा गणना की जाती है। यद्यपि इस विधि का उपयोग सूक्ष्मदर्शी की कुल आबादी का आकलन करने के लिए किया जाता है किन्तु मृत सूक्ष्म जीवों से जीवित सूक्ष्म जीवों में भेद करने के लिए विशिष्ट अभिरंजन तकनीकें आवश्यक हैं। अभिरंजन की अनेक तकनीकें हैं। ऐक्रिडीन आरेन्ज सबसे पुराना और सर्वाधिक प्रयुक्त अभिरंजक है जो कोशिकाओं के अंदर डी०एन०ए० को अभिरंजित कर देता है। जीवित कोशिकाओं का रंग हरा हो जाता है जबकि मृत कोशिकाओं में प्रकार्यात्मक साइटोप्लाज्मी झिल्ली न होने के कारण वे बहुत अधिक रंजक का अवशोषण कर लेती है और लाल रंग की हो जाती है। फ्लुओरेसिन आइसोथायोसायनेट (एफ०आइ०टी०सी) प्रोटीन में मौजूद डाइसल्फाइड समूह द्वारा अवशोषित होता है और जीवाणुओं के लिए उत्तम है किन्तु सब कवकों द्वारा अवशोषित नहीं होता है। कवकों के लिए, जल विलेय प्रतिदीप्तिशील रंजक ऐनिलीन ब्लू जो कवक कोशिकाओं में मौजूद β (1 – 3) ग्लाइकन बंधनों द्वारा अवशोषित होता है, उपयुक्त रहता है।

2. ऐगार प्लेट तकनीक (agar plate tehniquc)

यह मृदा-सूक्ष्मजीवों के पृथक्करण और गणना की एक सर्वाधिक प्रयुक्त विधि है। मृदा के तनु नमूनें (1 सेमी^{3} अथवा 0.1 cm^3 समभाग) परखनलियों में डाले जाते हैं जिनमें गलित और शीतलित ऐगार माध्यम होता है। ठीक प्रकार मिलाने के बाद मिश्रण को जीवाणुरहित पेट्रीप्लेटों में उड़ेल दिया जाता है। वैकल्पिक रूप से तनुकृत भागों को पिंडित ऐगार माध्यम की प्लेटों के पृष्ठ के ऊपर फैला दिया जाता है जिससे कॉलोनियाँ विकसित हो जाएं। प्लेटों पर विकसित कॉलोनियों की संख्या से मृदा के प्रति ग्राम जीवित जीवों की संख्या परिकलित की जा सकती है।

वांछित वर्ग को बढ़ावा देने और अन्य प्रकार के सूक्ष्मजीवों के संदमन के लिए उचित निरोधकों को मिलाना चाहिए। उदाहरण के लिए जीवाणुओं के संदमन और कवकों की वृद्धि को बढ़ावा देने के लिए माध्यम में रोज बेन्गल और स्ट्रेप्टोमाइसिन मिलाए जाते हैं। कवकों के लिए निस्टेटिन। साइक्लोहेक्सामाइड मिलाया जाता है।

स्मरणीय है कि किन्हीं विशेष संवर्धन परिस्थितियों में कुल सूक्ष्मजैव आबादी के केवल एक भाग का वर्धन हो सकेगा। उदाहरण के लिए यदि पोषक ऐगार माध्यम का उपयोग करें और प्लेटों को अंधेरे में 35^{o} C पर 48 घंटों तक वायु में ऊष्मायित करें तो आप निम्न प्रकार के सूक्ष्मजीवों की पहचान नहीं कर पाएंगे :

1. अवायुजीवी और अल्पवातरागी क्योंकि वे वायुमंडल द्वारा विषाक्त हो जाते हैं।
2. तापरागी, मध्यतापरागी और शीतरागी क्योंकि 35^{o} C पर उनका वर्धन नहीं होता है।
3. प्रकाशस्वपोषी क्योंकि उन्हें ऊर्जा स्रोत के रूप में प्रकाश की आवश्यकता होती है।
4. रसायन स्वपोषी, क्योंकि उन्हें अकार्बनिक पोषकों की आवश्यकता होती है।
5. मंद वर्धक क्योंकि दृश्य कालोनियां बनाने के लिए उन्हें एक सप्ताह अथवा उससे भी अधिक समय लगता है।

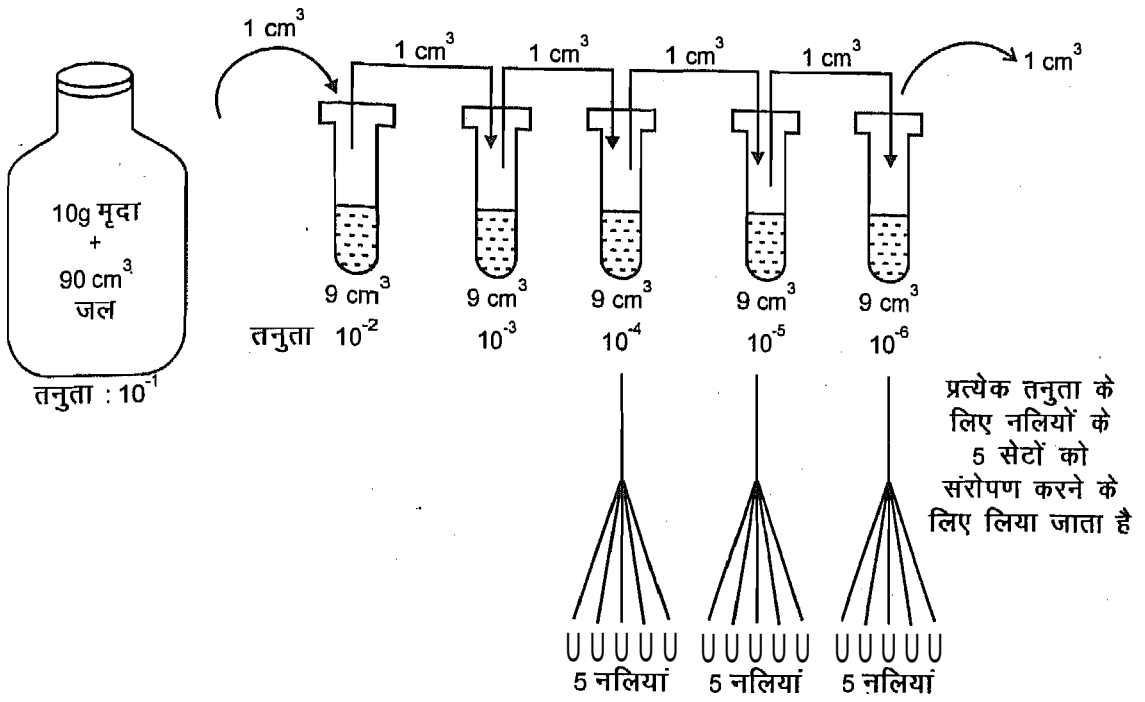
इसलिए, उल्लेखनीय है कि आवश्यकतानुसार विभिन्न माध्यमों और ऊष्मायन अवस्थाओं का उपयोग किया जा सकता है।

3. सर्वाधिक प्रसंभाव्य संख्या (most probable number) (एम०पी०एन०)

यदि प्लेट गणन उपयुक्त न हों तो तनुता गणन किए जा सकते हैं। तनुता-गणन अधिकतम मृदा-तनुता का निर्धारण है जिसमें, उपयुक्त माध्यम में, वर्धन हो सकेगा। परखनलियों के तीन सेटों (सामान्यत: 10, न्यूनतम 5) को संरोपित (enoculation) करने के लिए तीन क्रमिक तनुताओं से संरोप्यों का उपयोग किया जाता है (चित्र 20.5)। प्रत्येक परखनली में दृश्य वर्धन (visual growth) की गणना की जाती है और उसे धनात्मक माना जाता है और जिन परखनलियों में वर्धन नहीं होता है उन्हें ऋणात्मक माना जाता है। मानक सारणी की सहायता से इन्हें संख्याओं में परिवर्तित किया जाता है जैसे कि जल के नमूने के साथ किया था। इसे सूक्ष्मजीवों की गणना की सर्वाधिक प्रसंभाव्य संख्या (एम०पी०एन०) कहते हैं।

4. समृद्धि संवर्धन तकनीक (enrichmentculture technique)

अन्य विधि संवर्धन तकनीक है। यह किसी नमूने में विद्यमान सूक्ष्मजैविक वनस्पति की मात्रात्मक सूचना प्रदान नहीं करती है। इसके बजाय यह उन सूक्ष्मजीवों को पृथक करने में सहायता करती है जो मूल नमूने में बहुत कम संख्या में विद्यमान विशेष सबस्ट्रेट (कार्य द्रव) का उपापचयन कर सकते हैं। उदाहरणार्थ, माना आप मृदा सूक्ष्मजीवों को पृथक करना चाहते हैं जो लिग्निन जैसे किसी संकुलन यौगिक को निम्नीकरण कर सके (चित्र 20.6)। आपको ऐसा माध्यम तैयार करना पड़ेगा जिसमें लिग्निन, कार्बन का केवल मात्र स्रोत (ऊर्जा स्रोत) हो। फिर ऊर्जा स्रोत को फ्लास्क श्रेणी के पहले फ्लास्क में संरोपित किया जाता है और फिर उस फ्लास्क को ऊष्मायित्र में रखा जाता है। अनेक दिनों के ऊष्मायन के बाद कुछ पदार्थ को अपूतित: पहले फ्लास्क से दूसरे फ्लास्क में स्थानांतरित किया जाता है। इस प्रक्रम को अनेक बार दोहराया जाता है। इस श्रेणी में अंतिम निविष्ट फ्लास्क के ऊष्मायन के बाद इस फ्लास्क में रखे पदार्थ को ऐगार माध्यम में स्थानांतरित कर दिया जाता है जिसमें लिग्निन केवल मात्र कार्बन स्रोत होता है। ऊष्मायन के बाद ऐगार पर



चित्र **20.5:** सर्वाधिक प्रसंभाव्य संख्या तकनीक

कॉलोनियों का वर्धन होगा जिनमें लिग्निन उपयोजक सूक्ष्मजीव होते हैं। इसकी पुष्टि के लिए परीक्षण की जाने वाली प्रत्येक कॉलोनी की अल्पमात्रा को द्रव माध्यम में संरोपित किया जाता है जिसमें लिग्निन सबस्ट्रेट होता है अथवा नहीं होता। यदि संवर्धन प्रक्रम का चयन और वर्धन लिग्निन उपयोजक सूक्ष्मजीवों के वर्धन के लिए हो तो ऊष्मायन के बाद वर्धन के केवल उस माध्यम में होगा जिसमें सबस्ट्रेट है।

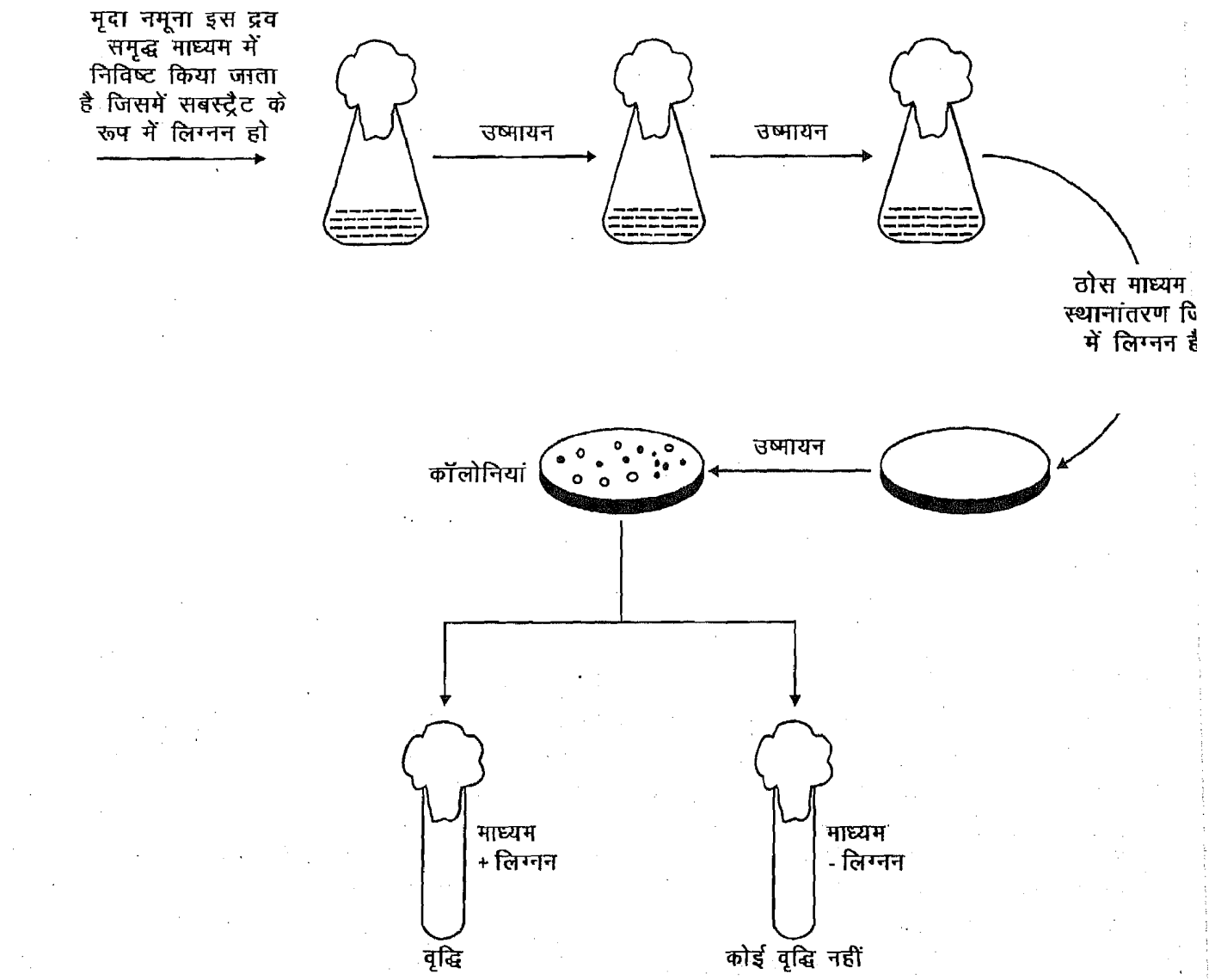
यद्यपि यह विधि विशिष्ट जीवों को पृथक करने के लिए होती है किन्तु यह निश्चित नहीं है। अर्थात् विटामिन आदि आवश्यक घटकों की कमी से वांछित उपापचयी प्रकार के सूक्ष्मजीवों का पृथक्करण नहीं होगा। वैकल्पिक रूप से संकुल सबस्ट्रेट के निम्नीकरण से एक से अधिक प्रकार के सूक्ष्मजीव प्राप्त हो सकते हैं।

5. दफन स्लाइड तकनीक (burial slide technique)

इस विधि को आरंभ में रॉसी और कोलोड्नी ने विकसित किया था। प्रयोगकर्ताओं के आवश्यकता के अनुसार इसमें संशोधन किए गए हैं। यह तकनीक मृदा संशोधनों के प्रभाव में मृदा सूक्ष्मवनस्पति में गुणात्मक परिवर्तनों का अध्ययन करने के लिए उपयोगी है। इसमें एक स्वच्छ कांच स्लाइड की आवश्यकता होती है जिसे मृदा में झिरी में प्रविष्ट किया जाता है। इसे तीन सप्ताह तक उसी स्थिति में रखा जाता है। स्लाइड के ऊपरी पार्श्व को विक्षुब्ध किए बिना सावधानीपूर्वक हटा दिया जाता है। ऊपरी पार्श्व को धीरे से जल से धोकर हवा में सुखा लिया जाता है और मंद ज्वाला में स्थिर कर दिया जाता है। उसके बाद ऊपरी पार्श्व को एरिथ्रोसिन अथवा रोज बंगाल से अभिरंजित कर दिया जाता है और सूक्ष्मवनस्पति के अध्ययन के लिए सूक्ष्मदर्शी द्वारा प्रेक्षण किया जाता है।

6. मृदा श्वसन तकनीक (soil respiration technique)

जब कार्बन युक्त सबस्ट्रेट, मृदा में ऑक्सीकृत किए जाते हैं तो CO_2 उत्पन्न होती है। CO_2 परिमापन, मृदा में सूक्ष्मजैविक गतिविधि का एक प्राचल अथवा सूचक है। CO_2 निर्धारण के लिए भारमापी, आयतमापी और दाबांतरमापी आदि सरल विधियों का उपयोग किया जाता है।



चित्र 20.6: समृद्धि संवर्धन तकनीक

i) दाबांतरमापी विधि

इसमें बारबर्ग दाबांतरमापी का उपयोग किया जाता है। किसी दाबांतरमापी फ्लास्क में 1–10 ग्राम मृदा लेकर उसमें जल अथवा बफर विलयन मिलाया जाता है जिससे 60% संतृप्ति प्राप्त हो। बीच के कूप में 3% पोटैशियम हाइड्रॉक्साइड विलयन का 0.2 सेमी^{3} डाला जाता है। CO_2 के अवशोषण के लिए पृष्ठीय क्षेत्र बढ़ाने के उद्देश्य से निस्यंदन पत्र का एक छोटा रोल भी वहां रख दिया जाता है। इसके बाद फ्लास्कों को बारवर्ग दांबातरमापी के साथ संयुक्त करने के बाद (जिनमें सूचक के रूप में ब्रॉडी विलयन होता है) 30° C पर जल बाथ में निलंबित कर दिया जाता है। समान अंतरालों पर दाबांतरमापी में पठनांकों में होने वाले परिवर्तनों को नोट कर लिया जाता है। ऑक्सीजन अंतर्ग्रहण की दर 1/ g / hr में व्यक्त की जाती है।

ii) आयतनमापी विधि

इस तकनीक में एक निश्चित अवधि में उत्पन्न CO_2 को एक वायुरुद्ध फ्लास्क में रखे NaOH विलयन में अवशोषित कर लिया जाता है। एक dm^3 के फ्लास्क में 100 ग्राम मृदा ली जाती है। एक परखनली में मानक M/2 NaOH का 15 cm^3 लेकर उसे इस फ्लास्क में निलंबित करने के बाद शीघ्र डाट लगा दिया जाता है। 24 घंटे तक ऊष्मायन

के बाद परखनली में रखी अंतर्वस्तु नए फ्लास्क में स्थानांतरित कर दी जाती है और परखनली में फिर से M/2 NaOH विलयन का 15 cm^3 भर दिया जाता है। उसे फिर से फ्लास्क में रखकर ऊष्मायित किया जाता है। पृथक किए गए NaOH का बोरियम क्लोराइड के संतृप्त विलयन के साथ उपचार किया जाता है जिसमें फीनॉल्फथेलीन विलयन की 2-3 बूंदे मिलाई गई हो। इसका मानक HCl (M/2) के साथ पश्च-अनु मापन किया जाता है।

7. मृदा एन्जाइम (Soil Enzymes)

जीवन में अनेक एन्जाइम अभिक्रियाऐं होती हैं और पोषण-चक्र की अधिकांश अभिक्रियाएं एन्जाइम द्वारा ही संपन्न होतीं हैं। अनेक एन्जाइम, मृदा सूक्ष्मजीवों द्वारा उनके उपापचय के समय उत्पन्न होते हैं। मृदा सूक्ष्मवनस्पति की कुल गतिविधियां, विभिन्न सूक्ष्मजीवों की गतिविधियों का योग होता है। प्राय: डिहाइड्रोजेनेस गतिविधियां बढ़ जाती हैं क्यों वे अहेतुक होती हैं और केवल जीवित कोशिकाओं में होती हैं और एक आसान प्रयोगशाला तकनीक है। 90% जल धारक क्षमता की 10-20 ग्राम मृदा लेकर उसे 200 मिग्रा $CaCO_3$ और 1% ट्राइफेनिल टेट्राजोलियम क्लोराइड (टी०टी०सी०) विलयन के 2 मिली के साथ मिलाया जाता है। मिश्रण को 24 घंटों तक ऊष्मायित किया जाता है। O_2 की अनुपस्थिति में टी०टी०सी०, सूक्ष्मजैव डिहाइड्रोजेनेस द्वारा उत्पन्न हाइड्रोजन के लिए सीमान्त ग्राही का काम करता है। टी०टी०सी० जो ऑक्सीकृत अवस्था में रंगहीन होता है, ट्राइफेनिल फॉर्मेजोन (टी०पी०एफ०) में अपचित हो जाता है जिसका लाल रंग होता है। टी०पी०एफ० को 485 नैनोमीटर पर मेथेनॉल के साथ निष्कर्षित किया जाता है। उसका प्रकाशित घनत्व, सान्द्रता का समानुपाती होता है और स्पेक्ट्रम प्रकाशमापी द्वारा पढ़ा जा सकता है।

8. आण्विक तकनीक (Molecular Technique)

हाल के वर्षों में अनेक आण्विक तकनीकों के विकास से, कृत्रिम माध्यम की आवश्यकता के बिना, मृदा वनस्पति के अभिनिर्धारण और परीक्षण में बहुत आशा बनी है। इसमें मृदा-अवसाद अथवा जल से डी०एन०ए० अथवा आर०एन०ए० का प्रत्यक्ष निष्कर्षण अथवा सूक्ष्मजीवों से नाभिकीय पदार्थ का निष्कर्षण किया जाता है। 16 S आर०एन०ए० का विश्लेषण जैसे मध्यवर्ती अभिगम से सूक्ष्मजीवों के वर्ग पृथक हो जाते हैं। विशिष्ट अभिगम में जीन अन्वेषी सम्मिलित किए जाते हैं जो जाति स्तर पर अथवा एन्जाइम स्तर पर पृथक हो जाते हैं। एक सर्वाधिक द्रुत और उत्तेजक विकसित तकनीक पॉलिमरेज श्रृंखला अभिक्रिया अथवा पी०सी०आर० है। यह डी०एन०ए० पॉलिमरेज एन्जाइम विशेष रूप से टैक पॉलिमरेज की गतिविधि पर आधारित है जो ऊष्मास्थायी है। गरम और ठंडे चक्रों की श्रेणी में, जबकि प्रत्येक चक्रम कुछ मिनटों का हो, वांछित स्ट्रांड (strand) का चरघातांकी पुनरुत्पादन होता है। इसका जीन अन्वेषी द्वारा विश्लेषण किया जा सकता है। इस तकनीक से मृदा अथवा अवसाद में प्राप्त संकुल आनुवंशिक पदार्थ की अल्पमात्राएं भी मापी जा सकती हैं।

बोध प्रश्न 6

क) हम मृदा में सूक्ष्मजीवों की गणना क्यों करते हैं?

.....

.....

.....

ख) 30° C पर ऊष्मायित पोषक ऐगार प्लेट के संरोपण से मृदा से किस प्रकार के जीवाणु की प्राप्ति नहीं होगे?

.....

.....

.....

ग) *p*-हाइड्रॉक्सीबेन्जॉइक अम्ल का उपापचयन करने वाले जीव को पृथक करने के लिए कौन सी विधि सर्वोत्तम है।

.....

.....

.....

घ) क्या प्लेट गणना में और सूक्ष्मदर्शी विधियों में, गणन संख्या समान होगी?

.....

.....

.....

बोध प्रश्न 7

क) बारबर्ग विधि में किस गैस की माप की जाती है?

.....

.....

.....

ख) मृदा सूक्ष्मजैव गतिविधि की माप किन एन्जाइम से प्राप्त होती हैं?

.....

.....

.....

ग) पी०सी०आर० क्या होता है?

.....

.....

.....

घ) टैक पॉलिमरेज ऊष्मा ..... होता है।

20.4 वायु का सूक्ष्मजैविक परीक्षण

भू पृष्ठ, भूमि और जल दोनों, वायुमंडल में सूक्ष्मजीवों का स्रोत होता है। मिट्टी से हवा द्वारा धूल उत्पन्न होती है और धूल के कण, मिट्टी में मौजूद सूक्ष्मजीवों को हवा में ले जाते हैं। वायुमंडल की सूक्ष्मजैव आबादी क्षणिक और परिवर्ती होती है। वायु में सूक्ष्मजीव पैदा नहीं होते हैं। हवा में मौजूद जीव कुछ फुट अथवा कई मील दूर वाहित हो जाते हैं। हवा में मौजूद कुछ सूक्ष्मजीव, कुछ ही सेकंडों में मर जाते हैं जबकि अन्य कई सप्ताहों, महीनों अथवा उससे भी अधिक समय तक जिन्दा रहते हैं। हवा में मौजूद सूक्ष्मजीवों की अंतिम परिणति, जटिल परिस्थितियों पर निर्भर करती है जिनमें आर्द्रता, ताप, सूर्य की रोशनी तथा सूक्ष्म जीवधारी कणों के आमाप आदि शामिल हैं। सूक्ष्मजीवों का स्वभाव भी महत्वपूर्ण होता है। उदाहरण के लिए बीजाणु अथवा पुटी बनाने वाले जीवों की वायुमंडल में अधिक समय तक जिन्दा रहने की संभावना रहती हैं।

शैवाल, प्रोटोजोआ, यीस्ट, फफूंदी और जीवाणुओं को भू-पृष्ठ के निकट वायु से पृथक किया गया है। वायु के सूक्ष्मजैविक प्रतिचयन की एक विधि इस प्रकासर है – ऐगार माध्यम युक्त पेट्रीडिश को कुछ समय तक हवा में रखें। डिश को ऊष्मायित करें और देखें कि ऐगार पृष्ठ पर मौजूद सूक्ष्मजीवों की वृद्धि से कालोनियां बन जाती हैं। इस विधि से हवा में मौजूद जीवों की लगभग संख्या और किस्मों की जानकारी प्राप्त होती है।

बोध प्रश्न 8

क) वायुमंडल में सूक्ष्मजीव कैसे पहुंचते हैं।

.....

.....

ख) हवा के नमूने में सूक्ष्मजीवों की संख्या कैसे निर्धारित की जाती है।

.....

.....

20.5 सारांश

इस इकाई में हमने जल, मृदा और वायु के सूक्ष्मजैविक परीक्षण के बारे में पढ़ा। हमने पढ़ा कि सूक्ष्मजीवों के चारों ओर जल, वायु और मृदा होती है। पृथ्वी की जल-आपूर्ति का लगातार पुनर्चक्रण होता रहता है। ये विभिन्न चरण मिलकर जलीय चक्र बनाते हैं। जल की पेयता के लिए आवश्यक है कि उसकी संदूषणों के लिए जांच की जाए। इसके लिए झिल्ली निस्यंदन तकनीक, प्लेट गणन आदि विभिन्न सूक्ष्मजैव तकनीकों का उपयोग किया जाता है। किन्तु कोलीफॉर्म जीवाणु की उपस्थिति व्यक्त करने के लिए तीन-पद परीक्षण सबसे अधिक प्रयुक्त होता है और महत्वपूर्ण है। व्यवहार में रोगाणुओं की नहीं, बल्कि, कोलीफॉर्मों की उपस्थिति जल की गुणता को निर्धारित करती है।

मृदा और वायु में रहने वाले सूक्ष्मजीवों का परीक्षण प्रयोगकर्ता की आवश्यकता के अनुसार, अनेक विधियों से किया जा सकता है। किन्तु कोई भी तकनीक पूर्णत: लाभदायक नहीं है। प्रत्येक के लाभ हैं और हानियां भी।

20.6 अंत में कुछ प्रश्न

1. जलीय चक्र क्या होता है?
2. अनुमानित जल-परीक्षण में प्रयुक्त माध्यम का सुनिश्चिम घटक क) लैक्टोस ख) ग्लूकोस ग) मेथिलीन ब्लू घ) पित्त लवण ङ) नाइट्रेट लवण होता है।
3. वृहत् परिमाण में जल के शोधन के लिए नीचे तत्वों में कौन सर्वाधिक प्रयुक्त होता है। क) फ्लुओरीन ख) क्लोरीन ग) आयोडीन घ) ब्रामीन ङ) पारा
4. एम०पी०एन० तीन पद प्रक्रिया गुणात्मक नहीं बल्कि मात्रात्मक है, क्यों?
5. इन परीक्षणों की श्रेणी में प्रथम परीक्षण के लिए अनुमानित शब्द का प्रयोग क्यों किया जाता है?
6. कोलीफॉर्मों के अलावा कौन से सूक्ष्मजीव सकारात्मक अनुमानित परीक्षण दे सकते हैं?
7. जल-विश्लेषण में झिल्ली निस्यंदन के लाभ कौन से हैं?

8. निम्नलिखित में कौन से तीन वंश जीवाणुओं के कोलीफॉर्म वर्ग के सदस्य हैं।

   क) क्लेबसीला **I)** शिगेला ग) साल्मोनेला 4) एशरिकिआ 3) एन्टेरोबैक्टर

9. मल कोलीफॉर्म और साल्मोनेला में भेद करने के लिए निम्नलिखित अभिलक्षणों में किसे प्रयुक्त किया जा सकता है?

   क) ग्रैम अभिक्रिया ख) ग्लूकोस का किण्वन ग) बीजाणुकजनन घ) लैक्टोस का किण्वन ङ) वृद्धि के लिए ताप की आवश्यकता

10. सूचक जीव के महत्वपूर्ण लक्षण बताइए।

11. कौन से अन्य तत्व है जिनके N, C और S चक्रों के समान चक्र-प्रक्रम होते हैं?

12. मृदा में सूक्ष्मजीवों की गणना के लिए प्रयुक्त प्रक्रियाओं के संदर्भ में निम्नलिखित कथनों में कौन सत्य हैं?

   क) एक प्लेट संवर्ध प्रक्रिया द्वारा सभी शरीरक्रियात्मक किस्मों का वर्धन किया जा सकता है।

   ख) मृदा नमूने के सूक्ष्मदर्शी परीक्षण से मृत और जीवित सूक्ष्मजैविक कोशिकाओं में भेद नहीं किया जा सकता है।

   ग) मृदा से जीवाण्विक जाति को पृथक करने की समृद्धि संवर्धन तकनीक अद्वितीय जैवरासायनिक अभिलक्षणों वाली एक उत्तम विधि है।

   घ) मृदा के नमूनों से निर्मित ऐगार प्लेट संवर्ध कुल सूक्ष्म जैविक वनस्पति के केवल एक भाग को व्यक्त करते हैं।

13. मृदा सूक्ष्मजीवों की संख्या और किस्मों के आकलन के लिए कौन सी तकनीकों का उपयोग किया जाता है?

14. डिहाइड्रोजेनेस की गतिविधि मापने का क्या लाभ है?

20.7 उत्तर

बोध प्रश्न

1. क) प्राकृतिक जल के तीन संवर्ग हैं : वायुमंडलीय जल, पृष्ठीय जल और भौमजल। इन तीनों में भौम जल की उत्तम गुणता होती है। और उसमें सूक्ष्मजैविक मात्रा भी कम होती है।

   ख) पृथ्वी का लगभग ¾ भाग पानी से घिरा है।

2. क) जलभृत, जलराशि है जो मृदा रंध्रों को संतृप्त कर देती है। यह पृष्ठीय जल का महत्वपूर्ण स्रोत होता है।

   ख) सुपोषण का अर्थ है जल में पोषक तत्वों को मिलाना जिससे बहुत अधिक सूक्ष्मजैविक वृद्धि होती है और ऑक्सीजन का ह्रास हो जाता है।

3. क) सूचक जीव वह है जिसकी जल में उपस्थिति प्रमाणित करती है कि जल, मल पदार्थ द्वारा प्रदूषित है और वह पीने के लिए उपयुक्त नहीं है।

   ख) कोलीफॉर्म, रोगाणुओं की तुलना में अधिक समय तक जीवित रहते हैं और संख्या में अधिक होते हैं। इसलिए कोलीफॉर्म का परीक्षण किया जाता है क्योंकि उनकी पहचान करना आसान होता है।

   ग) कोलीफॉर्म ग्रैम नेगेटिव, अबीजाणुक जनक, वायुजीवी और विकल्पी रूप से अवायुजीवी दण्डायु जो लैक्टोस के किण्वन से अम्ल और गैस उत्पन्न करते हैं।

घ) रोगाणु

ङ) कोलीफॉर्म और विशेष रूप से एशरिकिआ कोली, मनुष्यों और अन्य नियततापी प्राणियों, जिनके शरीर का ताप 37° C के आसपास रहता है, के आंत्र-नाल के सामान्य निवासी होते हैं।

4. क) कोलीफॉर्म

ख) प्रायिकतम संख्या

ग) इ०एम०बी० ऐगार पर *ई०कोली* धात्विक हरे रंग की कॉलोनियां और एन्टेरोबैक्टर लाल रंग की कॉलोनियां बनाता है।

घ) बी०जी०एल०बी०, इ०एम०बी०

ङ) 40 एम०पी०एन० प्रति 100 cm^3

5. क) संस्तर, मृदाओं की विशेषता होती है।

ख) जैव और खनिज मात्राएं, रंग, गठन, संरचना, रंध्रता और पी०एच० आदि मृदा-गुणधर्म, मृदा में सूक्ष्म-जीवों की संख्या और किस्मों को प्रभावित करते हैं।

ग) जीवाणुओं की संख्या सबसे अधिक होती है उसके बाद कवक, शैवाल, प्रोटोजोआ और विषाणु की संख्या होती है।

घ) N-चक्र, C-चक्र, S-चक्र

ङ) मृदा में जैव द्रव्य जैव गतिविधि को नियंत्रित करता है। अधिक जैव द्रव्य, अधिक सूक्ष्म वनस्पति को पोषण करता है और कम जैव द्रव्य में कम सूक्ष्म वनस्पति होती है।

6. क) मृदा में सूक्ष्मजीवों की गणना सूक्ष्मजैव वनस्पति की किस्म और मात्रा को जानने के लिए की जाती है।

ख) 30° C पर ऊष्मायित करने पर तापरागियों और शीतरागियों की प्राप्ति नहीं होगी।

ग) समृद्धि संवर्धन तकनीक।

घ) नहीं।

7. क) CO_2

a) डिहाइड्रजेनेस

ग) पॉलिमरेस श्रृंखला अभिक्रिया

घ) स्थायी

8. क) धूल-कणों द्वारा

ख) माध्यम के साथ पेट्रीडिश को हवा में रखने, और प्लेट को वृद्धि के लिए ऊष्मायित करने से।

अंत में कुछ प्रश्न

1. पृथ्वी की जल-आपूर्ति एक चरण से दूसरे चरण में लगातार चक्कर लगाती रहती है। इसके विभिन्न चरण जलीय चक्रण बनाते हैं।

2. लैक्टोस

3. क्लोरीन
4. एम०पी०एन० तीन पद प्रक्रिया में अनुमानित, पुष्टि और पूर्ण परीक्षण सम्मिलित हैं। ये कोलीफॉर्मों की उपस्थिति अथवा अनुपस्थिति कर सकारात्मक प्रमाण प्रस्तुत करते हैं किन्तु उपस्थित कोलीफॉर्मों की संख्या को नहीं बतलाते हैं।
5. अनुमानित शब्द का प्रयोग किया जाता है क्योंकि 37^{0} C पर लैक्टोस ब्रॉथ में गैस का बनना केवल कोलीफॉर्मों का ही नहीं बल्कि एन्टेरोबैक्टर एरोजेनेस और कुछ क्लेबसीला स्पीशीज का भी अभिलाक्षणिक है।
6. क्लेबसिला स्पीशीज
7. लाभ इस प्रकार हैं :
   यह प्रत्यक्ष, शीघ्र होने वाली (18 – 24 घंटों में परिणाम प्राप्त हो जाते हैं) प्रक्रिया है तथा इसमें जल-नमूने की बड़ी मात्राओं के साथ काम किया जा सकता है।
8. क्लेबसीला, एशरिकिआ, एन्टेरोबैक्टर
9. लैक्टोस का किण्वन
10. सूचक जीव को अधिक समय जीवित रहना चाहिए, अधिक संख्या में उपस्थित रहना चाहिए और मनुष्यों के लिए हानिरहित होना चाहिए।
11. फास्फोरस, लोहा, पोटैशियम
12. क) m a) सही ग) सही घ) सही
13. प्रत्यक्ष सूक्ष्मदर्शिकी, ऐगार प्लेट गणना और एम०पी०एन०।
14. अल्प समय में संवर्धन के बिना सूक्ष्मजीवों की पहचान करना।

अतिरिक्त पाठ्य सामग्री

1. टेक्स्ट बुक ऑफ माइक्रोबायोलॉजी, आर. अनंतनारायन और सी०के० जयराम पनिकर, ओरियन्ट लौंगमन लिमिटेड, मद्रास।
2. माइक्रोब्स इन एक्शन: ए लैबोरेटरी मैनुअल ऑफ माइक्रोबायोलॉजी डब्ल्यू. हैरी, जूनियर सीले एण्ड जे. पॉल वैनडेमार्क, डब्ल्यू०एच० फ्रीमेन एण्ड कम्पनी।
3. माइक्रोबायोलॉजी: फन्डामेन्टल्स एण्ड एप्लीकेशन्स, रोनल्ड, एम० एटलस, मैक्सवेल मैक्मिलन इन्टर्न।
4. माइक्रोबायोलॉजी, कन्सेप्टस एण्ड एप्लीकेशन्स, जूनियर एम०जे० पेल्कजार, इ०सी०एस० चान एण्ड एन०आर० क्रीग, मैक्ग्रा हिल इन्क।
5. फाउंडेशन्स इन माइक्रोबायोलॉजी, कथलीन टलरो एण्ड आर्थर टलरो, डब्ल्यू. सी०बी० पवलिकेशन।
6. सॉयल माइक्रोआर्गेनिज्म एण्ड प्लान्ट ग्रोथ, एन०एस०, सुब्बाराव, ऑक्सफोर्ड एण्ड आइ०बी०एच०पब०को।
7. इन्ट्रोडक्शन टू सॉयल माइक्रोबायोलॉजी, एम० एलेक्जैन्डर, विले इस्टर्न लिमिटेड।
8. सायल माइक्रोबायोलॉजी एण्ड बायोकेमिस्ट्री, इ०ए० पॉल एण्ड एफ०इ० क्लार्क।

प्रति **100 cm^3** नमूने के लिए कोलीफॉर्म की सर्वाधिक प्रसंभाव्य संख्या

धनात्मक नलियों की संख्या				धनात्मक नलियों की संख्या				धनात्मक नलियों की संख्या				धनात्मक नलियों की संख्या				धनात्मक नलियों की संख्या				धनात्मक नलियों की संख्या			
10	**1**	**0.1**	**MPN**	**10**	**1**	**0.1**	**MPN**	**10**	**1**	**0.1**	**MPN**	**10**	**1**	**0.1**	**MPN**	**10**	**1**	**0.1**	**MPN**	**10**	**1**	**0.1**	**MPN**
0	0	0	**<1.8**	1	0	0	**2**	2	0	0	**4.5**	3	0	0	**7.8**	4	0	0	**13**	5	0	0	**23**
0	0	1	**1.8**	1	0	1	**4**	2	0	1	**6.8**	3	0	1	**11**	4	0	1	**17**	5	0	1	**31**
0	0	2	**3.6**	1	0	2	**6**	2	0	2	**9.1**	3	0	2	**13**	4	0	2	**21**	5	0	2	**43**
0	0	3	**5.4**	1	0	3	**8**	2	0	3	**12**	3	0	3	**16**	4	0	3	**25**	5	0	3	**58**
0	0	4	**7.2**	1	0	4	**10**	2	0	4	**14**	3	0	4	**20**	4	0	4	**30**	5	0	4	**76**
0	0	5	**9**	1	0	5	**12**	2	0	5	**16**	3	0	5	**23**	4	0	5	**36**	5	0	5	**95**
0	1	0	**1.8**	1	1	0	**4**	2	1	0	**6.8**	3	1	0	**11**	4	1	0	**17**	5	1	0	**33**
0	1	1	**3.6**	1	1	1	**6.1**	2	1	1	**9.2**	3	1	1	**14**	4	1	1	**21**	5	1	1	**46**
0	1	2	**5.5**	1	1	2	**8.1**	2	1	2	**12**	3	1	2	**17**	4	1	2	**26**	5	1	2	**64**
0	1	3	**7.3**	1	1	3	**10**	2	1	3	**14**	3	1	3	**20**	4	1	3	**31**	5	1	3	**84**
0	1	4	**9.1**	1	1	4	**12**	2	1	4	**17**	3	1	4	**23**	4	1	4	**36**	5	1	4	**110**
0	1	5	**11**	1	1	5	**14**	2	1	5	**19**	3	1	5	**27**	4	1	5	**42**	5	1	5	**130**
0	2	0	**3.7**	1	2	0	**6.1**	2	2	0	**9.3**	3	2	0	**14**	4	2	0	**22**	5	2	0	**49**
0	2	1	**5.5**	1	2	1	**8.2**	2	2	1	**12**	3	2	1	**17**	4	2	1	**26**	5	2	1	**70**
0	2	2	**7.4**	1	2	2	**10**	2	2	2	**14**	3	2	2	**20**	4	2	2	**32**	5	2	2	**95**
0	2	3	**9.2**	1	2	3	**12**	2	2	3	**17**	3	2	3	**24**	4	2	3	**38**	5	2	3	**120**

0	2	4	**11**	1	2	4	**15**	2	2	4	**19**	3	2	4	**27**	4	2	4	**44**	5	2	4	**150**
0	2	5	**13**	1	2	5	**17**	2	2	5	**22**	3	2	5	**31**	4	2	5	**50**	5	2	5	**180**
0	3	0	**5.6**	1	3	0	**8.3**	2	3	0	**12**	3	3	0	**17**	4	3	0	**27**	5	3	0	**79**
0	3	1	**7.4**	1	3	1	**10**	2	3	1	**14**	3	3	1	**21**	4	3	1	**33**	5	3	1	**110**
0	3	2	**9.3**	1	3	2	**13**	2	3	2	**17**	3	3	2	**24**	4	3	2	**39**	5	3	2	**140**
0	3	3	**11**	1	3	3	**15**	2	3	3	**20**	3	3	3	**28**	4	3	3	**45**	5	3	3	**180**
0	3	4	**13**	1	3	4	**17**	2	3	4	**22**	3	3	4	**31**	4	3	4	**52**	5	3	4	**210**
0	3	5	**15**	1	3	5	**19**	2	3	5	**25**	3	3	5	**35**	4	3	5	**59**	5	3	5	**250**
0	4	0	**7.5**	1	4	0	**11**	2	4	0	**15**	3	4	0	**21**	4	4	0	**34**	5	4	0	**130**
0	4	1	**9.4**	1	4	1	**13**	2	4	1	**17**	3	4	1	**24**	4	4	1	**40**	5	4	1	**170**
0	4	2	**11**	1	4	2	**15**	2	4	2	**20**	3	4	2	**28**	4	4	2	**47**	5	4	2	**220**
0	4	3	**13**	1	4	3	**17**	2	4	3	**23**	3	4	3	**32**	4	4	3	**54**	5	4	3	**280**
0	4	4	**15**	1	4	4	**19**	2	4	4	**25**	3	4	4	**36**	4	4	4	**62**	5	4	4	**350**
0	4	5	**17**	1	4	5	**22**	2	4	5	**28**	3	4	5	**40**	4	4	5	**69**	5	4	5	**440**
0	5	0	**9.4**	1	5	0	**13**	2	5	0	**17**	3	5	0	**25**	4	5	0	**41**	5	5	0	**240**
0	5	1	**11**	1	5	1	**15**	2	5	1	**20**	3	5	1	**29**	4	5	1	**48**	5	5	1	**350**
0	5	2	**13**	1	5	2	**17**	2	5	2	**17**	3	5	2	**32**	4	5	2	**56**	5	5	2	**540**
0	5	3	**15**	1	5	3	**19**	2	5	3	**26**	3	5	3	**37**	4	5	3	**64**	5	5	3	**920**
0	5	4	**17**	1	5	4	**22**	2	5	4	**29**	3	5	4	**41**	4	5	4	**72**	5	5	4	**1600**
0	5	5	**19**	1	5	5	**24**	2	5	5	**32**	3	5	5	**45**	4	5	5	**81**	5	5	5	**>1600**